Universidade de Aveiro Departamento de Química
Ano 2017/2018

Inês Sofia Oliveira Borges

Controlo de qualidade na Indústria das Rolhas de Cortiça. Caso de Estudo: PrecisionElite.

Universidade de Aveiro Departamento de Química
Ano 2017/2018

Inês Sofia Oliveira Borges

Controlo de qualidade na Indústria das Rolhas de Cortiça. Caso de Estudo: PrecisionElite.

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica, realizada sob a orientação científica do Doutor Manuel António Coimbra, Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e supervisão da Dr.ª Luísa Nero e da Eng. Ana Rios da PrecisionElite.

Dedico este trabalho à minha família e amigos pelo incansável apoio.

o júri

presidente

Prof. Doutor Brian James Goodfellow
professor auxiliar da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Sílvia Maria da Rocha Simões Carriço
professora auxiliar da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Manuel António Coimbra Rodrigues da Silva
professor associado com agregação da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Ao professor Doutor Manuel António Coimbra pela disponibilidade, orientação científica e espírito crítico que foram fundamentais para a realização e sucesso deste trabalho.

À Dra. Luísa Nero, gerente da PrecisionElite, pela oportunidade dada.

À Eng. Ana Rios, por todo o conhecimento transmitido, por toda a ajuda e disponibilidade.

Aos colaboradores da PrecisionElite por me terem recebido tão bem.

Á minha família e amigos pelo apoio, incentivo, paciência e por acreditarem em mim.

palavras-chave

Controlo de qualidade; Cortiça; Rolhas; Plano HACCP

resumo

A cortiça, devido à sua estrutura celular e composição química, possui propriedades únicas que lhe permite ser utilizada como vedante, na forma de rolhas de cortiça, em garrafas de vinho. No entanto, as suas caraterísticas fazem com que esta matéria-prima também possa ser uma fonte de contaminação, podendo levar à migração de compostos para o vinho e, consequentemente, causar alterações no seu aroma. Desta forma, as rolhas de cortiça devem ser sujeitas a um rigoroso controlo de qualidade. A presente dissertação foi realizada em ambiente empresarial na PrecisionElite, em Paços de Brandão, que tem como principal atividade o acabamento de rolhas de cortiça. O trabalho teve como objetivo, utilizando a metodologia HACCP-Hazard Analysis and Critical Control Point (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo), identificar as análises necessárias ao controlo de qualidade associados a cada fase do processo.

Na primeira fase foi possível conhecer a empresa PrecisionElite, assim como acompanhar auditorias de qualidade e resolução de não conformidades. Na segunda fase, foram avaliados os parâmetros físico-químicos nas rolhas de cortiça, sejam as usadas como matéria-prima pela empresa, seja o produto final, após marcação e tratamento. Foram feitas análises de capilaridade, estanquicidade/comportamento à vedação líquida, força de extração, humidade, resistência à água fervente, dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização, massa volúmica, peróxidos, resíduos sólidos e haloanisóis. Foram também feitas análises sensoriais olfativas ao extrato aquoso das rolhas.

Neste trabalho, verificou-se que todos os lotes rececionados pela empresa cumpriram com os parâmetros físico-químicos estabelecidos, sendo estes aceites. Foi também possível verificar que os parâmetros físico-químicos gerias estão relacionados entre si, sendo essencial controlar todos eles. A nível dos parâmetros sensoriais, certificou-se a existência, em maioria, dos aromas pertencentes ao grupo bolor e TCA. Analisando dois tipos de rolhas, as naturais e as colmatadas, verificou-se que o número de lotes de rolhas contaminadas é superior nas rolhas naturais, no entanto as intensidades de aromas são superiores nas rolhas colmatadas.

Assim, é necessário avaliar todos os parâmetros físico-químicos e sensoriais, nas rolhas de cortiça, de modo a garantir a boa qualidade do produto e evitar problemas na indústria vinícola.

keywords

Quality control; Cork; Stoppers; HACCP Plan

abstract

Cork, due to its cellular structure and chemical composition, has unique properties that allow its use as a sealant, in the form of cork stoppers of wine bottles. However, their characteristics make this raw material also a source of contamination, by the migration of compounds into the wine and, consequently changing the aroma. For these reasons, cork stoppers must be subject to strict quality control. The present dissertation was carried out in an enterprise environment, at PrecisionElite, in Paços de Brandão, whose main business is the finishing of cork stoppers. The objective of this work was to identify the analyzes necessary for the quality control associated with each phase of the process, using the Hazard Analysis and Critical Points (HACCP) methodology. In the first phase it was possible to adapt to the company PrecisionElite, as well as to participate in the monitor quality audits and resolution of non-conformities. In the second phase, the physico-chemical parameters were evaluated in cork stoppers, either those used as raw material by the company, or the final product, after marking and treatment. The analyzes performed concerned capillarity, sealing/behavior to the liquid seal, extraction force, humidity, resistance to boiling water, dimensions (length and diameter), ovalization, density, peroxides, solid residues, and haloanisols. Olfactory sensory analyzes were also performed on the aqueous extract of stoppers.
In this work, it was verified that all the batches received by the company complied with the physical-chemical parameters established, being these accepted. It was also possible to verify that the physico-chemical parameters are positively related to each other, being essential to control all of them. At the level of the sensorial parameters, it was verified the existence, in the majority, of the aromas belonging to the group mold and TCA. Analyzing two types of stoppers: natural and colmated, it was found that the number of lots of contaminated stoppers is higher in the natural corks, however the aromas intensities are higher in the corked stoppers.
Thus, it is necessary to evaluate all physico-chemical and sensory parameters in cork stoppers in order to ensure good product quality and avoid problems in the wine industry.

Índice

1.Introdução **1**
1.1 A empresa **1**
1.2 Enquadramento e objetivos do estágio **1**
2. A Cortiça **3**
2.1 Cortiça e estrutura celular **3**
2.2 Composição química **4**
2.3 Processo de produção industrial da cortiça **7**
2.4 Contaminantes nas rolhas de cortiça **10**
3. Controlo de qualidade de rolhas de cortiça **15**
3.1 Parâmetros físico-químicos 16
3.2 Parâmetros sensoriais 24
3.5 Metodologia HACCP 27
4. Parte Experimental **41**
4.1 Amostragem 41
4.2 Parâmetros físico-químicos 41
4.3 Parâmetros sensoriais 46
4.4 Tratamento de dados 47
5. Resultados e Discussão **48**
5.1 Parâmetros físico-químicos 48
5.2 Parâmetros sensoriais 56
6. Conclusão **63**
7. Referências **64**
8. Anexos **69**
Anexo A: Tabela de amostragens **69**
Anexo B: Ficha de prova da análise sensorial **70**
Anexo C: Força de extração e o teor de humidade nas rolhas de cortiça **71**
Anexo D: Comprimento e a humidade em rolhas de cortiça **73**
Anexo E: Análise sensorial e Quantificação de haloanisóis nas rolhas de cortiça ... **75**

Índice de figuras

Figura 1: Fotografia de microscopia eletrónica de varrimento (SEM): seção radial (a) e seção tangencial (b) (11). 3
Figura 2: Exemplo da estrutura química proposta para a suberina (11). 5
Figura 3: Classificação das rolhas de cortiça. 8
Figura 4: Esquema do processo de transformação da cortiça (9). 10
Figura 5: Mecanismo proposto para a formação de clorofenóis a partir de cloroanisóis (40). 14
Figura 6: Rolhadora automática. 18
Figura 7: Ensaio da determinação da força de extração. 18
Figura 8: Aparelho Medcork. 20
Figura 9: Ensaio da determinação de dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização e massa volúmica. . 20
Figura 10: Kit de peróxidos (54). 22
Figura 11: Ensaio da determinação de resíduos sólidos. 22
Figura 12: Roda de Aromas da cortiça (36). 26
Figura 13: Severidade vs Probabilidade de ocorrência de um perigo (dados da PrecisionElite). 28
Figura 14: Descrição dos sete princípios do HACCP (72). 30
Figura 15: Layout das instalações da PrecisionElite. 31
Figura 16: Processo produtivo da PrecisionElite. 34
Figura 17: Fluxograma sistemático de Identificação de Perigos. 36
Figura 18: Árvore de Decisão adotada pela PrecisionElite. 38
Figura 19: Ensaio da capilaridade. 42
Figura 20: Ensaio da determinação da vedação ou estanquicidade do líquido. 43
Figura 21: Medição da força de extração. 44
Figura 22: Teor de resíduos sólidos libertados (em mg/rolha) e força de extração (em daN) de rolhas colmatadas (relatórios nºs 33, 49, 160 e 173), naturais sem revestimento (relatórios nºs 13, 14, 120, 130, 227 e 263) e naturais com revestimento (relatórios nºs 40, 96, 109, 159, 207, 216 e 279). 50
Figura 23: Força de extração (em daN) e teor de humidade (em %) em rolhas de cortiça sem revestimento. 51
Figura 24: Comprimento (em mm) e teor de humidade (em %) em rolhas de cortiça naturais sem revestimento. 52
Figura 25: Concentração de TCA (em ng/L) de lotes de rolhas naturais. … <Limite de quantificação (0,5 ng/L). A linha vermelha indica a concentração máxima aceite pela PrecisionElite. 55
Figura 26: Concentração de TCA (em ng/L) de lotes de rolhas colmatadas. ... <Limite de quantificação (0,5 ng/L). A linha vermelha indica a concentração máxima aceite pela PrecisionElite. 55
Figura 27: Percentagem de lotes contaminados e descritores de aroma dos lotes de rolhas naturais e colmatadas. 57
Figura 28: Percentagem de lotes contaminados e níveis de intensidade do aroma detetado na análise sensorial de rolhas naturais e colmatadas. 58
Figura 29: Percentagem de rolhas naturais contaminadas por lote e nível de intensidade do aroma detetado na análise sensorial (0- sem aroma, 1- muito ligeiro, 2- ligeiro, 3- moderado, 4- intenso, 5- muito intenso). Coeficiente de Pearson: 0,69. 59

Índice de tabelas

Tabela 1: Principais monómeros da suberina da cortiça (11). 5
Tabela 2:Principais componentes químicos presentes na cortiça do sobreiro *Quercus suber* L. (em percentagem de componentes totais) (14,18). 6
Tabela 3: Estrutura química, odor caraterístico e limite de perceção sensorial de alguns dos compostos identificados como contaminantes das rolhas de cortiça (36). 12
Tabela 4: Parâmetros físico-químicos e sensoriais analisados nas rolhas de cortiça na PrecisionElite. 16
Tabela 5: Valores estabelecidos pela PrecisionElite para o comprimento, diâmetro, ovalização e massa volúmica para os diferentes tipos de rolhas. 21
Tabela 6: Exemplo de alguns compostos voláteis identificados nas rolhas de cortiça (52,61–63). 25
Tabela 7: Codificação dos documentos internos na PrecisionElite. 40
Tabela 8: Amostragem dos respetivos ensaios realizados. 41
Tabela 9: Amostragem da análise sensorial e quantificação de haloanisóis. 41
Tabela 10: Força de extração (em daN) dos diferentes tipos de rolha. 48
Tabela 11: Resíduos sólidos (em mg/rolha) dos diferentes tipos de rolha. 49
Tabela 12: Determinação da humidade (em %) dos diferentes tipos de rolha. 50
Tabela 13: Comprimento (em mm) de dois tipos de rolhas naturais (com e sem revestimento). 52
Tabela 14: Diâmetro (em mm) de dois tipos de rolhas naturais (com e sem revestimento). 53
Tabela 15: Ovalização (em mm) de dois tipos de rolhas naturais (com e sem revestimento). 53
Tabela 16: Massa volúmica (em Kg/m^3) de dois tipos de rolhas naturais (com e sem revestimento). 54
Tabela 17: Análise de perigos associado a cada fase do processo realizado na PrecisionElite. 60

Lista de Abreviaturas e Siglas

Sigla/ Abreviatura	Português	Inglês
CIPR	Código Internacional das Práticas Rolheiras	International Code of Cork Stoppers Practices
HACCP	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo	Hazard Analysis and Control of Critical Points
ISO	Organização Internacional para padronização	International Organization for Standardization
PCA	Pentacloroanisol	Pentachloroanisole
PCC	Ponto Crítico de Controlo	Control of Critical Point
SPME	Micro-extração em fase sólida	Solid Phase Micro Extraction
SPME- GC- ECD	Micro-extração em fase sólida - Cromatografia de fase gasosa com detetor de captura de eletrões	Solid Phase Micro Extraction - Gas Chromatography with electron capture detector
SPME- GC- MS	Micro-extração em fase sólida - Cromatografia de fase gasosa com espetrometria de massa	Solid Phase Micro Extraction - Gas Chromatography with mass spectrometry
TeCA	2,3,4,6 – Tetracloroanisol	2,3,4,6-Tetrachloroanisole
TBA	2,4,6- Tribromoanisol	2,4,6- Tribromoanisole
TCA	2,4,6-Tricloroanisol	2,4,6-Trichloroanisole

1.Introdução

1.1 A empresa

O presente trabalho de estágio foi desenvolvido na empresa PrecisionElite (Cork is Life) que foi fundada em março de 2011, tendo como principal atividade o controlo, tratamento, acabamento e comercialização de rolhas de cortiça. Localizada em Paços de Brandão (Santa Maria da Feira), a PrecisionElite, cujo nome e logótipo remetem para a preocupação pelo ambiente e biodiversidade, destacam-se no mercado, tornando-se uma das maiores fornecedoras de rolhas de cortiça naturais para marcas de vinhos de elevado relevo a nível internacional. A empresa atua de modo a fornecer o melhor produto aos seus clientes através de uma oferta diferenciada, desde rolhas de cortiça natural, natural colmatada, rolhas de microaglomerado, aglomerado, técnica (1+1), capsuladas e de champanhe, seguindo todas elas por um rigoroso controlo de qualidade.

A PrecisionElite foca-se em obedecer a um conjunto de pontos de modo a manter o seu estatuto no mercado, maioritariamente no mercado Europeu, assim a empresa tem como finalidades satisfazer as necessidades do cliente, assegurando a fidelização e sustentabilidade da empresa; ser distinguida como uma das melhores fornecedoras de rolhas de cortiça natural; investir incansavelmente na inovação e desenvolvimento (I&D); ser rentável de modo a garantir o cumprimento dos seus compromissos diante dos seus fornecedores, parceiros institucionais e restantes colaboradores; e ser reconhecida na sociedade pela ética, legalidade e defesa do meio ambiente. Desta forma, a PrecisionElite (Cork is Life) pretende valorizar a rolha de cortiça como sendo um produto natural e ambientalmente sustentável por intermédio de uma oferta de excelência estabelecida por modelos profissionais de elevado sucesso empresarial e internacional. A unidade é certificada pela acreditação Systecode Excellence que divulgada o CIPR (Código Internacional de Práticas Rolheiras), pela ISO 9001:2015 e pela HACCP (1).

1.2 Enquadramento e objetivos do estágio

O setor corticeiro encontra-se em expansão em Portugal, com uma área mundial de cerca de 34%, ou seja, mais de 736 mil hectares de sobreiros, tornando-se o maior produtor e transformador de cortiça do mundo representando aproximadamente 49,6% e 100 mil

toneladas anuais (2,3). A cortiça é um material utilizado em diversas áreas relacionadas com a construção, decoração, mas sobretudo na indústria vinícola, sendo o mercado português responsável por 70% das exportações totais do setor (4). As rolhas de cortiça possuem propriedades naturais de extrema relevância: leveza, flexibilidade, elasticidade, compressibilidade, impermeabilidade, imputrescibilidade (resistência à humidade), produto reciclável, reutilizável e renovável, oferendo à industria vinícola um vedante com características únicas (5).

As rolhas de cortiça são utilizadas na produção de vedantes de garrafas de vinho e para tal têm de ser sujeitas a um rigoroso controlo de qualidade uma vez que se é considerado como parte da embalagem, estando assim em contato com o produto alimentar. A fim de controlar a presença de compostos voláteis não desejáveis e manter as propriedades físicas e químicas das rolhas foi necessário implementar normas de qualidade, nomeadamente o Código de Internacional de Práticas Rolheiras (CIPR) e o Sistema de Certificação das Empresas (Systecode) (6). Vários são os compostos voláteis presentes nas rolhas, no entanto o 2,4,6-tricloroanisol (TCA) é descrito como o maior contaminante , alterando as propriedades organoléticas dos vinhos (7). Com a intenção de controlar os parâmetros físico-químicos e sensoriais, as rolhas de cortiça são sujeitas a ensaios de determinação da capilaridade, da vedação/estanquicidade de líquido, da força de extração, da humidade, das dimensões, da massa volúmica, do teor de peróxido de hidrogénio e do teor de compostos voláteis capazes de causar alterações nos vinhos (8).

O estágio teve várias etapas, iniciando-se com uma formação com o prepósito de conhecer o historial da empresa, os seus produtos e serviços assim como o processo de gestão de qualidade executado pela empresa. Posteriormente, acompanhar e participar no processo de controlo de qualidade das rolhas. O objetivo principal do estágio foca-se na identificação das análises necessárias ao controlo de qualidade em cada fase do processo de produção e acabamento de rolhas de cortiça e consequentemente estabelecer os pontos críticos e respetivas medidas corretivas através da metodologia HACCP.

2. A Cortiça

2.1 Cortiça e estrutura celular

A estrutura celular da cortiça é responsável pelas características únicas que este material possui, permitindo-lhe ser utilizado em diversas áreas. Por definição, a cortiça ou felema é um tecido vegetal que constitui a camada protetora do sobreiro *Quercus suber* L. e é constituída por células mortas suberizadas formadas a partir do tecido felogénico (9,10). O tecido felogénio é uma camada unicelular e dispõe de uma elevada atividade meristemática, sendo um tecido ativo ao longo de toda a vida do sobreiro. As células que constituem o tecido felogénio têm a capacidade de crescer e se diferenciar, produzindo novas células que se podem dispor interna ou externamente, originando o feloderme, que são células semelhantes às da madeira, e células de cortiça (felema ou súber), respetivamente (11,12). Os tecidos felogénio, felema e feloderme, em conjunto originam a periderme.

A nível microscópico, a cortiça é um tecido homogéneo de células dispostas sem espaço intercelular entre elas. Na seção tangencial, as células estão dispostas paralelamente, dispondo-se na forma de polígonos de 4 a 9 lados (Figura 1).

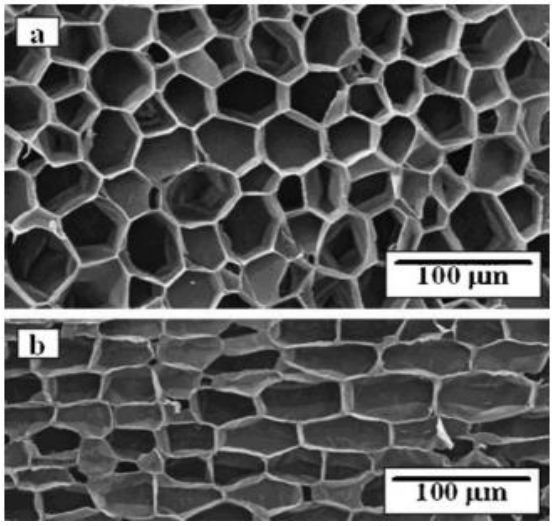


Figura 1: Fotografia de microscopia eletrónica de varrimento (SEM): seção radial (a) e seção tangencial (b) (11).

As faces laterais das células da cortiça possuem uma forma ondulada, com cerca de duas ou três ondulações por célula, resultantes da compressão durante o crescimento da

célula e da casca. Desta forma, o tecido felogénio produz células com diferentes dimensões, tendo esta diferença uma relação direta com a estação do ano em que foram formadas. Durante a primavera, o felogénio produz células de maiores dimensões, mais longas e com parede celular mais fina do que no outono. Em virtude deste acontecimento é possível definir-se a idade da cortiça, uma vez que este crescimento provoca a formação de anéis de crescimento que se observam macroscopicamente (11). A nível macroscópico, a cortiça contém canais lenticulares na sua estrutura, que se atravessam radialmente desde o interior do felogénio até ao exterior, facilitando as trocas gasosas. A qualidade da cortiça é definida de acordo com a sua porosidade, sendo analisado o tipo de poros, a sua dimensão, quantidade e distribuição (11,13).

2.2 Composição química

A estrutura e composição química da cortiça são responsáveis pelas propriedades físico-químicas desta matéria-prima. A cortiça é constituída maioritariamente por macromoléculas insolúveis em água e que definem a estrutura da parede-celular. Na cortiça, os principais componentes estruturais são a suberina (42%), a lenhina (22%) e os polissacarídeos (20%) (14,15). A suberina, principal constituinte das paredes celulares da cortiça, é um poliéster reticulado, composto por ácidos gordos hidroxilados de cadeia longa, conferindo hidrofobicidade à cortiça (Figura 2) (16). Os monómeros encontrados na suberina podem-se agrupar em ácidos gordos, álcoois gordos e glicerol (11,13). A constituição química da cortiça varia como a sua origem geográfica e genética, clima e condições do solo e de crescimento, dimensões da árvore e a sua idade (11).

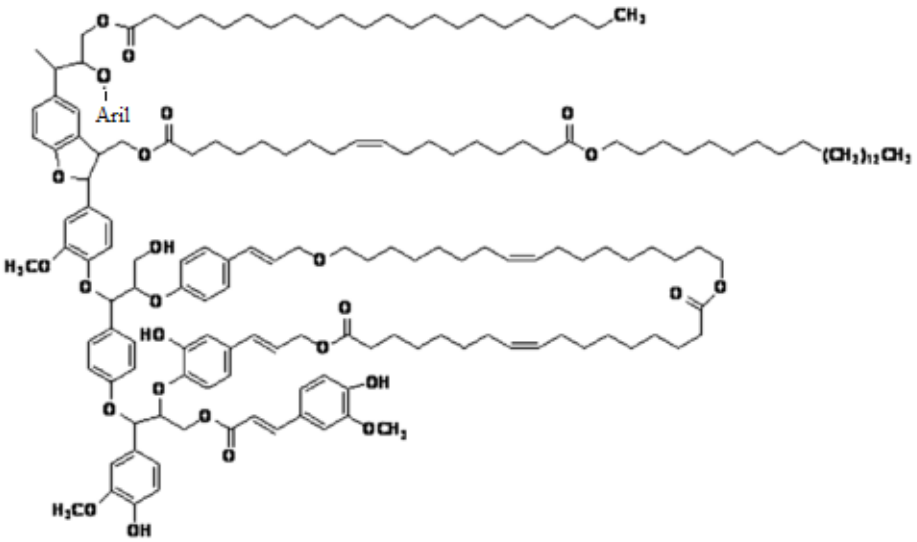


Figura 2: Exemplo da **e**strutura química proposta para a suberina (11).

Tabela 1: Principais monómeros da suberina da cortiça (11)**.**

Monómero	**Grupo Funcional**	**Quantidade (%)**
Ácidos Gordos	- COOH	3%
α,ω-diácidos	- COOH	10%
ω-hidroxiácidos	-COOH - OH	48%
Álcoois	- OH	2%
Ácido 9,10-epoxi-18-hidroxioctadenoíco	- COOH	6%
Ácido 9,10-epoxioctadecanodioíco	- COOH	4%
Ácido 9,10,18-tri-hidroxioctadecanoíco	- COOH	10%
Ácido 9,10-di-hidroxioctadecanedioíco	- COOH - OH (2 ligações)	7%
Ácido ferúlico	- COOH	5%
Glicerol	- OH	14%

A lenhina (22%), responsável pela rigidez da cortiça, é uma macromolécula composta por álcoois fenólicos polimerizados e encontra-se interligado, por ligações covalentes à parte hidrofóbica da suberina. Além dos constituintes macromoleculares anteriormente referidos, a cortiça é composta, em menores quantidades, por polissacarídeos (20%) que conferem rigidez estrutural à célula. Os polissacarídeos da cortiça são formados essencialmente por celulose, mas também por polissacarídeos pécticos (11).

Os componentes não estruturais presentes na cortiça classificam-se em extratáveis e componentes inorgânicos (Tabela 2). Os compostos extratáveis correspondem a cerca de 16% da composição da parede celular da cortiça e são substâncias de baixa ou média massa molecular que podem ser removidos através de solventes com diferentes graus de polaridade, dividindo-se em ceras e compostos fenólicos (10%) (9,11).. As ceras (6%), extraídas por solventes apolares ou de baixa polaridade, são responsáveis pela impermeabilidade da cortiça. As ceras são compostas por compostos aromáticos e alifáticos. Os alifáticos são compostos essencialmente por triterpenos, como a friedelina, betulina e ácido betulínico, mas também por ácidos gordos, álcoois gordos e glicerol (11). Por outro lado, os compostos fenólicos, essencialmente taninos (6%) e flavonoídes, são removidos com solventes polares (água e etanol) (11). Os componentes inorgânicos são identificados como "cinzas" que resultam da incineração da cortiça e correspondem a 1% da parede celular (17) (Tabela 2).

Tabela 2: Principais componentes químicos presentes na cortiça do sobreiro *Quercus suber* L. (em percentagem de componentes totais) (14,18).

Parâmetro químico	Média	Gama	Desvio padrão
% de peso seco da cortiça			
Extratáveis (total)	16.2	32.9 - 8.6	3.9
Diclorometano	5.8	7.4 - 3.5	0.8
Etanol	5.9	22.0 - 1.7	3.0
Água	4.5	11.2 - 1.0	1.6
Suberina (total)	42.8	54.2 - 23.1	6.2
Lípidos de cadeia longa	41.0	50.5 - 23.0	5.2
Glicerol	3.8	5.1 - 2.7	0.6
Lenhina (total)	22.0	36.4 - 17.1	3.3
Monossacarídeos, % de açúcares neutros totais			
Glucose	46.1	53.6 - 41.8	3.6
Xilose	25.1	31.7 - 21.4	3.7
Arabinose	18.0	24.4 - 12.7	3.0
Manose	3.0	12.4 - 2.1	2.8
Galactose	7.3	10.4 - 5.2	1.2
Ramnose	0.5	1.1 - 0.0	0.5

Os compostos fenólicos são extraídos através de soluções etano-água, que representa uma solução alcoólica. No caso da cortiça utilizada como vedante, o vinho comporta-se como uma solução hidroalcoólica, podendo extrair uma variedade de compostos voláteis

da cortiça e, consequentemente, estes migrarem para o líquido alterando as suas propriedades sensoriais (19).

2.3 Processo de produção industrial da cortiça

As rolhas de cortiça são a principal fonte de contaminações do vinho, que posteriormente podem alterar as suas propriedades. Como consequência, é necessário acompanhar todo o processo a que a cortiça é sujeita até ao produto final, neste caso como rolha, de modo a evitar possíveis contaminações.

O processo de extração da cortiça do sobreiro tem de obedecer a um conjunto de regras relativas a época, periocidade, intensidade e modalidade e ocorre seguindo várias etapas, as quais são dividas em cinco tipos de atividades principais que se encontram descritas nas seções seguintes.

O primeiro passo é a extração da cortiça do sobreiro, ou descortiçamento, de forma manual ou mecânica, ocorrendo normalmente no Verão, período em que a atividade meristemática do tecido felogénio é máxima, e com uma periocidade de nove anos sem danificar a árvore (20). O primeiro descortiçamento ou desbóia ocorre com uma idade de sensivelmente 20 a 30 anos da árvore, originando uma cortiça de má qualidade, a cortiça virgem, que possui uma superfície exterior irregular e uma dureza extrema. Esta cortiça é normalmente utilizada na forma granulada a fim de produzir painéis para fins de material de isolamento ou decorativos. Após descortiçamentos sucessivos, a superfície exterior da cortiça resultante é mais uniforme. No entanto, no segundo descortiçamento, a cortiça secundeira ainda possui uma certa dureza, não sendo aproveitada para produzir rolhas dado que é considerada de qualidade relativamente baixa. Somente a partir do segundo descortiçamento é que se obtém a cortiça de reprodução ou amadia, uma cortiça de boa qualidade utilizada especialmente para trituração, obtenção de granulados e posteriormente para fabrico de aglomerados (9,20–22).

A cortiça crua é transformada em matéria-prima com o intuito de ser utilizada principalmente pela indústria rolheira. Nesta atividade, a cortiça é submetida a um processo de cozedura em água, é aparada e classificada de acordo com a sua espessura e qualidade. A cozedura permite melhorar as propriedades das tábuas de cortiça, de modo a se obterem rolhas de elevada qualidade, uma vez que que este choque térmico faz com que as paredes suberosas da cortiça tomem a forma e dureza necessárias para o fabrico de rolhas. Este procedimento remove a maioria das impurezas acumuladas (4,21,23). Este

processo permite produzir, a partir do corte da prancha, uma diversidade de produtos, desde as rolhas naturais, discos, papel de cortiça ou artesanato. A primeira etapa de fabrico de rolhas naturais, ou rabaneação, baseia-se no corte das placas de cortiça em tiras com dimensões ligeiramente superiores às das rolhas a fabricar. Posteriormente, as tiras de cortiça são perfuradas através do processo de brocagem, obtendo-se rolhas de forma cilíndrica de acordo com as dimensões desejáveis. De seguida, ocorre uma pré-secagem que garante a estabilidade dimensional das rolhas e a retificação que controla as dimensões finais específicas e regulariza a superfície das rolhas. A indústria corticeira executa a seleção de rolhas, separando-as por classes e defeitos, sendo esta realizada por controlo automático, seleção visual da superfície das rolhas ou por escolhas visual e manual por colaboradores experientes. Durante esta fase as rolhas são classificadas de acordo com critérios visuais por ordem decrescente de qualidade, em flor, extra, superior, 1º, 2º, 3º e 4º tal como representado na Figura 3.

Figura 3: Classificação das rolhas de cortiça.

As rolhas são sujeitas a um processo de lavagem, onde são mergulhadas numa solução de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) de diferentes concentrações, conferindo uma coloração natural da cortiça (30% v/v) ou o branqueamento das rolhas (50% v/v) (24). Este processo permite assegurar a limpeza e a desinfeção das rolhas. Porém, o uso de um composto oxidante pode provocar alterações na estrutura das rolhas e consequentemente perda do efeito vedante da cortiça. As rolhas naturais podem ainda sofrer um processo de colmatagem, que consiste em tapar os canais lenticulares fixando uma mistura de pó de cortiça, obtida na atividade de retificação, com o auxílio de uma cola à base de resina e borracha naturais ou à base de água, melhorando o seu aspeto visual e desempenho - rolhas naturais colmatadas. A indústria corticeira reveste as suas rolhas naturais colmatadas

também com uma resina a fim de igualar e homogeneizar a sua cor. No entanto, as rolhas naturais apenas são revestidas sob pedido de clientes. O processo de transformação termina com a marcação no corpo e/ou topos das rolhas com o logo do cliente, que pode ser aplicada por método de fogo ou impressão a tinta de qualidade alimentar, de acordo com as indicações do cliente. O tratamento das rolhas com parafina e silicone facilita a introdução e remoção da rolha na garrafa. Anteriormente à comercialização e expedição, o produto é embalado sob uma atmosfera de anidrido sulfuroso (SO_2) de modo a diminuir o risco de contaminação microbiológica (1,4,21,23).

Os refugos, aparas, resíduos de brocagem, sobras de cortiça virgem e outros tipos de cortiça de baixa qualidade são subprodutos derivados do processo de transformação da cortiça. De acordo com a trituração e moagem das aparas de cortiça, obtêm-se granulados de dimensões e características variadas, utilizados essencialmente na produção de rolhas de cortiça aglomeradas, microaglomeradas e rolhas técnicas (1+1) (corpo em aglomerado/microaglomerado com dois discos em natural nos topos) (4).

Após o tratamento dos resíduos de cortiça, obtidos a partir da produção de rolhas ou de cortiça de baixa qualidade, são produzidos granulados que posteriormente podem ser combinados e originarem outros materiais aglomerados. Estes aglomerados são materiais bastante compactos que se podem dividir em duas categorias principais: os aglomerados puros ou negros e os aglomerados compostos ou brancos. Os aglomerados negros são formados a partir da aglutinação dos grânulos de matéria-prima devido à elevada temperatura a que são sujeitos (300ºC), estimulando o aumento do volume das partículas de cortiça e a consequente libertação de resinas naturais, não sendo necessário adicionar colas ou aditivos. Por outro lado, os aglomerados compostos são formados através da aplicação de um agente adesivo que possibilita a aglutinação dos grânulos de cortiça (4,25).

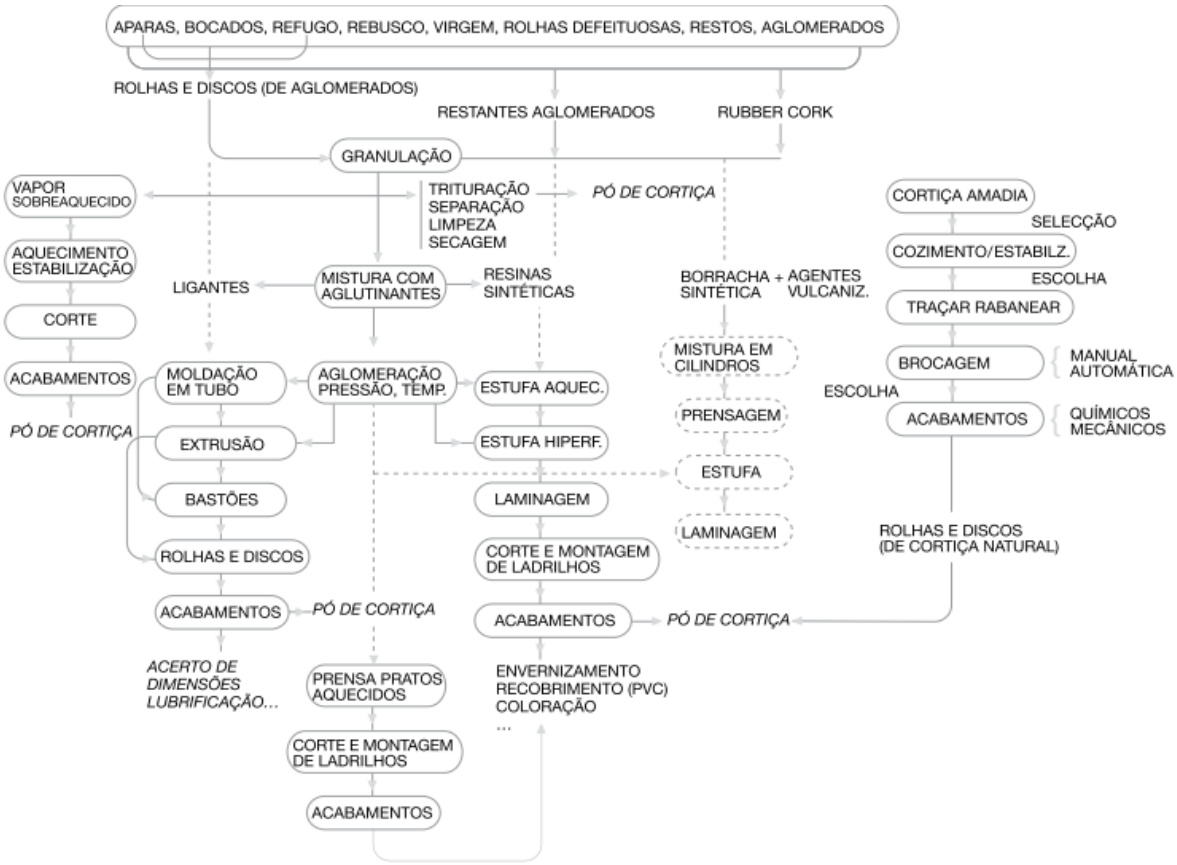


Figura 4: Esquema do processo de transformação da cortiça (9).

2.4 Contaminantes nas rolhas de cortiça

As alterações sensoriais dos vinhos são a maior causa de perdas económicas na indústria vinícola (26,27). Estas alterações podem estar associadas às rolhas de cortiça que, devido à sua estrutura, facilmente podem transferir compostos para o vinho, causando a perda no seu aroma natural, dando origem a odores a mofo, originando vinhos de baixa qualidade (28). Além da contaminação causada por componentes constituintes das rolhas de cortiça, estas podem também ser provocadas por outros agentes em que a rolha de cortiça é o veículo de contaminação. Por exemplo, compostos adsorvidos desde o transporte da cortiça até à produção da rolha ou por desenvolvimento de microflora indesejável de microorganismos (29,30).

Alguns dos compostos envolvidos nos defeitos dos vinhos são o 1-octen-3-ol, 1-octen-3-ona, guaiacol, geosmina, 2-metilisoborneol e 2-metoxi-3,5-dimetilpirazina. Os cloroanisóis, como o TeCA e PCA, e os bromoanisóis (TBA), embora em menor grau, desempenham um papel no aparecimento de manchas na cortiça (31,32). Estes compostos são facilmente detetados por painéis especializados e/ou treinados devido ao seu baixo

limiar de perceção sensorial. O treino do painel de análise sensorial pode aumentar a sensibilidade ao odor, reduzindo os limites detetados, tornando mais rigorosa a aceitabilidade de um determinado vinho (33).

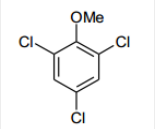
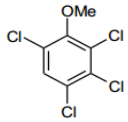
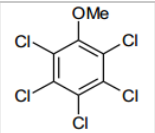
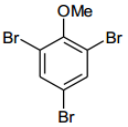
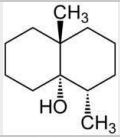
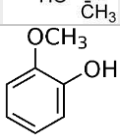
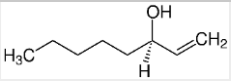
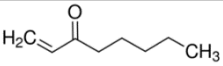
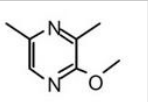
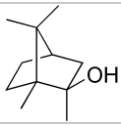
A geosmina (ou trans-1,10-dimetil-trans-9-decalol) contribui para um aroma a terra ou a mofo no vinho e resulta da atividade de actinomicetes e fungos, tais como *Penicillium expansum*, *Botrytis cinérea*, ou ambas (34,35). O seu limite de perceção é 0,17 ng/L e o limite de reconhecimento é de 0,2 ng/L em água. No entanto, no vinho, o seu limite não é determinado uma vez que é uma molécula instável em meio ácido, resultando na sua fragmentação e consequentemente diminuição do seu teor no vinho (36).

O guaiacol é um composto que apresenta um aroma fumado e fenólico e resulta da degradação do ácido vanílico formado a partir da descarboxilação e oxidação da lenhina provocados por fungos que poderão existir nas rolhas. Este composto possui um limite de perceção sensorial de 15 μg/L – 200 μg/L (36,37). Por outro lado, os metabolitos 1-octen-3-ol e 1-octen-3-ona resultam da degradação de lípidos e originam um aroma a cogumelos (37).

A 2-metoxi-3,5-dimetilpirazina é um composto volátil, responsável pelo odor a mofo ou terra (herbáceo), possui um limite de perceção sensorial no vinho é de 2,1 ng/L. A bactéria responsável pela sua biossíntese é a *Rhizobium excellensis* se presente nas rolhas (38).

O 2-metilisoborneol é responsável pelo aroma e odor a lama e possui um limite de perceção sensorial em água e em vinho branco de 3,2 ng/L – 8,0 ng/L e 20 ng/L – 51 ng/L, respetivamente (36,39). Na Tabela 3 estão descritas as estruturas, o limite de perceção e odor caraterístico de algumas das substâncias provenientes da cortiça responsáveis pelas modificações sensoriais do vinho.

Tabela 3: Estrutura química, odor caraterístico e limite de perceção sensorial de alguns dos compostos identificados como contaminantes das rolhas de cortiça (36).

Composto	Estrutura química	Odor Característico	Limite de perceção sensorial
TCA		Mofo	Água:0,8 ng/L–1,0 ng/L Vinho branco:1.5 ng/L–4,2 ng/L
TeCA		Mofo	
PCA			
TBA		Químico, Fenólico	Vinho branco:43 µg/L
Geosmina		Mofo, Terroso	Água:0,17 ng/L–0,2 ng/L
Guaiacol		Fumado, Fenólico	Vinho branco:15 µg/L–200 µg/L
1-octen-3-ol		cogumelos	
1-octen-3-ona		cogumelos	
2-metoxi-3,5-dimetilpirazina		Mofo, Herbáceo	Vinho: 2,1 ng/L
2-metilisoborneol		Lama, Terroso	Água:3,2 ng/L – 8,0 ng/L Vinho branco:20 ng/L–51 ng/L

O TCA, produto exógeno, é descrito como sendo o principal responsável pelo desvio organolético associado ao "gosto a rolha" dos vinhos. A contaminação por TCA tem sido associada unicamente a rolhas de cortiça, porém existem outras fontes, como o contacto direto com produtos contaminados. A contaminação das rolhas de cortiça pode ter diferentes origens, como durante o crescimento da cortiça na árvore através da água utilizada para rega ou da atmosfera ou durante o processo produtivo da cortiça. Durante o

processo de transformação da cortiça, a contaminação pode ter origem nos materiais de embalagem, paletes e/ou o próprio ambiente contaminados ou a lavagem de barricas de vinho ou das rolhas com produtos que contenham cloro (32). Desta forma, o Código Internacional das Práticas Rolheiras (CIPR) proibiu o uso destes produtos na lavação das rolhas de cortiça, sendo substituídos por peróxido de hidrogénio.

A poluição ambiental em que a cortiça se encontra ou a presença de bolores na própria cortiça, formados a partir de meios com cloro, causam a formação de 2,4,6-triclorofenol (TCP), que por resultado da atividade fúngica na cortiça, através da metilação microbiana e/ou fungicida, herbicida e inseticida origina o TCA (28,40). Os cloroanisóis são formados como resultado da reação de metilação do grupo hidroxilo dos clorofenóis. A metilação é realizada por fungos filamentosos na presença da enzima clorofenol-O-metiltransferase. Efetivamente, a toxicidade dos clorofenóis deve-se essencialmente à elevada reatividade do grupo hidroxilo, que em contacto com proteínas e ácidos nucleicos da célula, provoca danos celulares. Porém, a reação de O-metilação reduz totalmente a sua toxicidade. A O-metilação de clorofenóis é mediada por uma metiltransferase dependente de S-Adenosil-L-Metionina (SAM), a clorofenol-O-metiltransferase (CMT1), tal como foi visto na estirpe *Trichoderma longibrachiatum*. A CMT1 é induzida por clorofenóis com três ou mais átomos de cloro na sua estrutura. A sua atividade enzimática é específica para fenóis halogenados, contendo sobretudo flúor, cloro ou bromo (41).

A microflora da cortiça varia de acordo com as condições de origem, processamento, transporte ou armazenamento. As espécies identificadas são dos géneros *Penicillium sp.*, *Trichoderma virgatum*, *Chrysonilia sp*., *Cladosporium sp*., *Fusarium sp*., *Acremonium sp*., *Aspergillus sp*., *Monilia sp*., *Mucor sp*., *Paecilomycenes sp*., *Rhizoctonia sp*., *Mortierella sp*. e *Verticillium sp*. (42). As espécies apontadas como responsáveis na produção de clorofenóis, são do género *Rhodococcus*, *Acinetobacter* e *Pseudomona*, que podem surgir nas diferentes fases de produção das rolhas de cortiça, nomeadamente durante a cozedura e a sua posterior estabilização, caso as boas práticas não sejam corretamente seguidas (5,43). A espécie *Trichoderma virgatum* favorece a conversão, via metilação, do pentaclorofenol (PCP) em pentacloroanisol (PCA) (43).

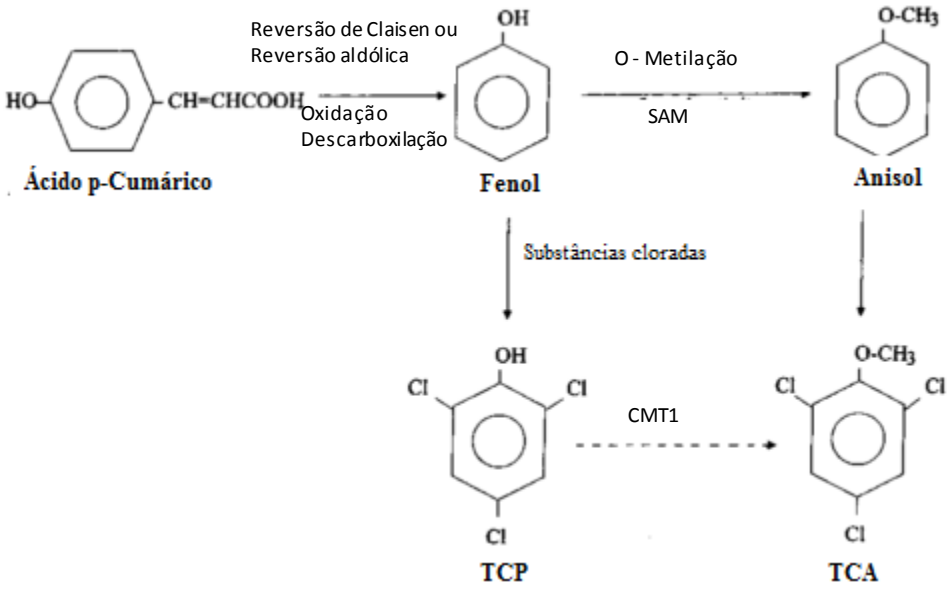


Figura 5: Mecanismo proposto para a formação de clorofenóis a partir de cloroanisóis (40).

A *Armillaria mellea* é um fungo que habita em árvores ou arbustos lenhosos, como o sobreiro, e possui a capacidade de degradar a lenhina e a pectina da cortiça causando alterações nas células do tecido e consequentemente separação da parede celular. A degradação fúngica dos polissacarídeos pécticos da cortiça pode contribuir para a disponibilidade de uma fonte de nutrientes na cortiça, possibilitando o ataque simultâneo de outros microorganismos, podendo provocar modificações na qualidade das rolhas de cortiça (44). Com o objetivo de prevenir a formação de TCA, a indústria corticeira, além de obedecer a normas estabelecidas pelo CIPR, tem também desenvolvido atividades que se baseiam na extração, prevenção e controlo de qualidade. Os métodos para a extração resumem-se a novos sistemas de cozedura, destilação sob vapor controlado, volatilização por arrastamento em temperatura e humidade controladas e em fase gasosa de polaridade ajustada e/ou extração com CO_2 no estado supercrítico (6). Para prevenir, é usada sobretudo tecnologia baseada no uso de radiação (ionização e micro-ondas) e processos biológicos (Symbios) e enzimáticos (6). Por outro lado, o controlo é estabelecido através de técnicas como cromatografia em fase gasosa com deteção de captura de eletrões (SPME-GC-ESD) ou associada à espetrometria de massa (SPME-GC-MS), mas também por análise sensorial (28,32,45).

3. Controlo de qualidade de rolhas de cortiça

A indústria da cortiça tem vindo a apostar na investigação e desenvolvimento em qualidade em todos os setores, com especial relevo para a implantação do CIPR (Código Internacional das Práticas Rolheiras) e do Systecode (Sistema de certificação de empresas), que tanto certifica o cumprimento de regras definidas pelo CIPR como institui um conjunto de normas com a finalidade de prevenir a formação de TCA (5).

A aplicabilidade das rolhas de cortiça como vedante de garrafas de vinho em virtude das suas características de elasticidade, compressibilidade e constituição celular, é capaz de assegurar a conservação de qualquer tipo de vinho (5). À vista disso, é necessária uma avaliação rigorosa a nível químico, físico e sensorial de modo a garantir o controlo de qualidade. Este consiste num conjunto de atividades que complementam as Boas Práticas, estabelecem normas de qualidade e inspecionam as matérias-primas, material de embalagem e outros produtos que estejam em contacto com as rolhas e, ainda executam protocolos de higiene das áreas envolvidas no processo de produção (46). Na presente dissertação foram avaliados, através da metodologia HACCP, os parâmetros físico-químicos e sensoriais com maior relevância na indústria corticeira de modo a estabelecer a segurança alimentar. A implementação desta metodologia tornou-se obrigatória na produção e embalamento na indústria corticeira desde 1998 e trata-se de uma abordagem sistemática direcionada para a identificação de perigos biológicos, químicos e físicos e ainda de etapas do processo que possam ser críticos, sendo caracterizada como um sistema preventivo de gestão alimentar que assegura a higiene e a segurança dos alimentos, permitindo estabelecer medidas preventivas que reduzam a probabilidade de ocorrência dos perigos que possam colocar em risco a segurança dos produtos e consequentemente dos consumidores (6,47). Os parâmetros analisados e os ensaios realizados nas rolhas de cortiça na PrecisionElite estão enumerados na Tabela 4.

Tabela 4: Parâmetros físico-químicos e sensoriais analisados nas rolhas de cortiça na PrecisionElite.

Parâmetros	Ensaios
Físico-Químicos	Determinação da capilaridade Determinação da vedação/estanquicidade do líquido Determinação da força de extração Determinação da humidade Determinação das dimensões - comprimento e diâmetro Determinação da ovalização Determinação da massa volúmica Determinação de peróxidos Determinação de resíduos sólidos Quantificação de haloanisóis
Sensoriais	Análise sensorial olfativa

3.1 Parâmetros físico-químicos

As rolhas de cortiça são sujeitas a um tratamento com parafina com o objetivo de as tornar impermeáveis, impedindo a absorção de líquido por capilaridade (6). Porém, a cortiça possui canais de pequenas dimensões entre as células e lenticelas que favorecem a absorção de líquido (48). Desta forma, a determinação da capilaridade é um dos parâmetros avaliados e consiste em verificar a capacidade de a rolha de cortiça absorver a solução hidroalcoólica à superfície. Para tal, um dos topos da rolha é colocada numa solução hidroalcoólica corada com azul de metileno, com teor alcoólico idêntico ao vinho a engarrafar, durante 24 horas. Após este tempo verifica-se a progressão da solução na superfície da rolha. O ensaio é efetuado em amostras de lotes prontos a serem expedidos, após as rolhas serem sujeitas ao tratamento de superfície e o limite de aceitação é de 1 milímetro de progressão externa.

Quando as rolhas são introduzidas na garrafa ficam sujeitas a uma pressão exercida pelos compostos voláteis existentes no vinho, podendo alterar o seu desempenho como vedante. A determinação da vedação ou estanquicidade do líquido avalia o comportamento da rolha quando sujeita a uma solução hidroalcoólica a diferentes pressões. O ensaio baseia-se em colocar as rolhas num tubo de vidro, que simula o gargalo de uma garrafa, e é adicionada uma solução hidroalcoólica (teor alcoólico análogo ao vinho a engarrafar) corada com azul de metileno que fica em contacto com a rolha. Posteriormente, são colocados num equipamento designado de árvore de vedação que exerce pressão sobre a solução (0.5, 1, 1.5 e 2 bar) e consequentemente sobre a rolha. É realizado após o

tratamento de superfície e sob pedido de clientes. Para a PrecisionElite, o resultado permitido é a presença de 100% de rolhas vedantes até 1.5 bar.

A determinação da força de extração é outro ensaio realizado pela indústria da cortiça e relaciona-se com o tratamento de superfície, à base de parafina e silicone, a que as rolhas são sujeitas (6). A determinação deste valor permite determinar o sucesso do tratamento. As rolhas de cortiça são revestidas com uma película de parafina e silicone que as torna impermeáveis quer à absorção de líquidos quer à extração de compostos para o vinho, garantindo a boa estanquicidade da garrafa e boa extração da rolha (4). As ceras da parafina são substâncias compostas por átomos de carbono e hidrogénio com fórmula molecular C_nH_{2n+2}, sendo n superior a 17, e permitem substituir as ceras e óleos perdidos durante o processo de produção de rolhas de cortiça (49,50). A parafina tem como função a inibição da entrada de vinho e a perda de água da rolha, dando às rolhas de cortiça a capacidade de impermeabilização. A parafina é um óxido de organo-silício, formulado como poli-dimetilsiloxano, e facilita a inserção e a remoção da rolha nas garrafas de vidro (50). Assim, a aplicação da parafina permite impermeabilizar a rolha e o silicone reduz a aderência entre a superfície da garrafa e a rolha de cortiça, facilitando a sua extração. Numa primeira fase, a rolha é introduzida na garrafa, por meio de uma rolhadora automática, que comprime a rolha para que seja possível a sua introdução no gargalo. Após o engarrafamento, a rolha necessita de um tempo de estabilização até exercer pressão uniforme no gargalo. A rolha de cortiça recupera o seu volume 5 a 10 minutos após o engarrafamento, adaptando-se à forma do gargalo e exercendo pressão uniforme ao longo de toda a superfície do vidro (5). Ao fim de 1 hora mede-se a força de extração através de um dinamómetro acoplado a um equipamento denominado Extralab. O ensaio é realizado em amostras de lotes expedidos, após o tratamento de superfície. A força de extração definida internamente pela PrecisionElite encontra-se compreendida entre 15 e 45 decaNewton (daN).

Figura 6: Rolhadora automática.

Figura 7: Ensaio da determinação da força de extração.

As dimensões da cortiça podem ser alteradas devido ao teor de humidade, sendo necessário ter em atenção estes valores durante os processos de brocagem e retificação

para que as dimensões pretendidas sejam alcançadas (51). A humidade nas rolhas de cortiça deve estar compreendida num intervalo especifico (4-9%) de forma a manter as propriedades elásticas adequadas e a minimizar o possível risco de desenvolvimento microbiológico (6). O ensaio é realizado às rolhas nas fases de receção e expedição, após tratamento de superfície, e consiste em medir a percentagem de humidade presente no interior das rolhas e é realizada através de um condutivímetro de agulhas com dois elétrodos inserido no aparelho MedCork. De acordo com CIPR (Código Internacional das Práticas Rolheiras), a percentagem de humidade em cada rolha deve-se situar entre 6 ± 2% (21).

As rolhas de cortiça podem ter formatos variados, desde cilíndricos ou cónicos e com várias dimensões, dependendo do tipo de vinho a engarrafar e da duração e condições de transporte. A ovalização assegura a forma cilíndrica das rolhas, garantindo uma perfeita vedação, mesmo perante alterações estruturais do vidro (5,6). A massa volúmica das rolhas oferece indicações quanto à regularidade do fabrico, permitindo avaliar as propriedades de compressão e elasticidade das rolhas (5). As determinações das dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização e massa volúmica, que permite averiguar se as especificações estabelecidas pelo cliente são cumpridas, são realizadas num único aparelho: MedCork (Figura 10). O ensaio é efetuado em amostras, após tratamento de superfície, de lotes expedidos. Na tabela 5 estão representados os critérios de aceitação, para cada tipo de rolha, estabelecidos pela PrecisionElite.

Figura 8: Aparelho Medcork.

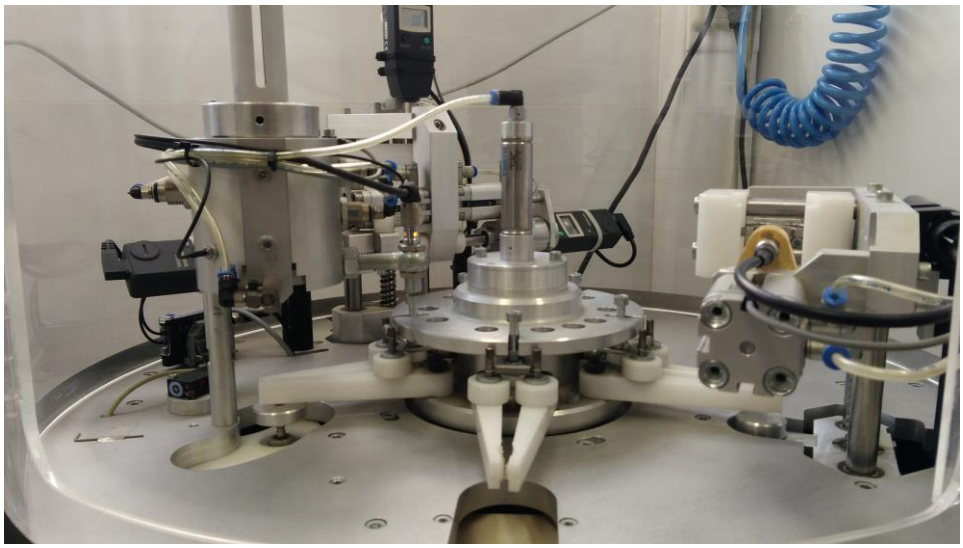


Figura 9: Ensaio da determinação de dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização e massa volúmica.

Tabela 5: Valores estabelecidos pela PrecisionElite para o comprimento, diâmetro, ovalização e massa volúmica para os diferentes tipos de rolhas.

Tipo de rolha	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Ovalização	Massa volúmica (kg/m^3)
Naturais	± 0,7	± 0,5	< 0,7	120-220
Aglomeradas / Microaglomerada	± 0,5	± 0,3	< 0,5	200-280
Técnicas (1+1)	± 0,5	± 0,3	< 0,5	240-300
Colmatadas e Naturais revestidas	± 0,7	± 0,5	< 0,7	120-270

As rolhas sofrem um processo de lavagem com peróxido de hidrogénio como meio de desinfeção e branqueamento. Esta lavagem permite a eliminação de microorganismos que possam estar envolvidos na origem dos clorofenóis e consequentemente na formação do TCA, induzindo simultaneamente a eliminação de compostos responsáveis pela cor das rolhas de acordo com a coloração desejada pelo cliente (6,52). O branqueamento com H_2O_2 dá-se através de duas reações que competem entre si: (1) reação entre o anião hidroperóxido (HO_2^-), nucleófilo forte que reage com os cromóforos da lenhina, que causa a alteração da coloração da cortiça; (2) degradação oxidativa dos grupos fenólicos existentes na lenhina causados pelos produtos de decomposição do peróxido de hidrogénio (53). Assim, para atingir um máximo de eficiência do agente de branqueamento (H_2O_2), é necessário controlar a sua decomposição de modo a reduzir a degradação da lenhina da cortiça. Após a finalização da lavagem das rolhas, estas devem ser analisadas de modo a verificar a existência de resíduos de peróxidos presentes na sua superfície para evitar a perda da qualidade do vinho. Os resíduos de peróxidos são extraídos através do uso de uma solução de ácido acético e, posteriormente, a sua concentração é determinada utilizando um kit de peróxidos, que consiste num conjunto de tiras reativas que, semi-quantitativamente, avalia o teor de peróxidos através da alteração de cor. A reação tem como base a transferência do oxigénio do peróxido, por meio da enzima peroxidase, para um indicador de redox orgânico, resultando num produto de oxidação de coloração azul (54). A tonalidade obtida na tira é, então, comparada com um conjunto de cores padrão exibidas na embalagem que correspondem a determinadas concentrações de peróxidos. O

ensaio é realizado em todos os lotes recebidos, sendo a amostra de 3 rolhas/lote, e o teor aceitável apara a PrecisionElite é inferior a 0,2 mg/rolha.

Figura 10: Kit de peróxidos (54).

As rolhas de cortiça podem possuir resíduos sólidos devido à sua estrutura celular porosa. A presença destes resíduos pode comprometer o aspeto e consequentemente o desempenho como vedante. A determinação dos resíduos sólidos, ou quantificação de poeiras, tem como objetivo quantificar o pó libertado pelas rolhas de cortiça após o tratamento de superfície. A metodologia consiste em colocar as rolhas de cortiça numa solução hidroalcoólica, com teor alcoólico semelhante ao vinho a engarrafar, e posteriormente por filtração em vácuo, determinar a quantidade de pó libertada pelas rolhas de cortiça. O ensaio é realizado apenas sob pedido do cliente e para a PrecisionElite o valor permitido é inferior a 2 mg/rolha.

Figura 11: Ensaio da determinação de resíduos sólidos.

O vinho possui um teor alcoólico de 8 a 13% (v/v) e pH entre 3 e 4, atuando como uma solução de extração. Estas caraterísticas possibilitam a transferência de compostos da cortiça para o vinho (55). A cortiça possui alguma permeabilidade ao vapor de água e a outras moléculas em estado de vapor. Desta forma, e devido à sua estrutura porosa, os compostos voláteis, sejam eles metabolitos ou contaminantes ambientais, penetram e são adsorvidos pela superfície interna da cortiça (11,14,28). As rolhas rececionadas pela PrecisionElite são sujeitas a inspeção visual e a análises sensoriais e deteção de TCA e se se verifica alguma não conformidade procede-se à sua devolução. Os principais compostos responsáveis pelas alterações organoléticas no vinho são os haloanisóis, essencialmente o TCA (56,57). A libertação de TCA é determinada pela sua quantidade, localização na cortiça e eventualmente por outras propriedades físicas relacionadas com a solução de imersão. Adicionalmente, o teor alcoólico da solução de imersão está também relacionado com a libertação de TCA (7). Na PrecisionElite, a extração de compostos voláteis na cortiça é realizada através da imersão das rolhas em vinho branco com um teor alcoólico de 12% (v/v) por 24h. Posteriormente, a solução é fornecida a um laboratório externo que procede à quantificação de TCA, TeCA, TBA e pentacloroanisol recorrendo à metodologia de SPME-GC-MS. Este método consiste na combinação de técnica de micro-extração em fase sólida (SPME) com a cromatografia em fase gasosa (GC), sendo também possível a utilização de sistema de deteção altamente sensíveis como a captura de eletrões (ECD) (6).

A quantificação de haloanisóis em rolhas aglomeradas/microaglomeradas e técnicas (1+1) é executada em todos os lotes recebidos. A PrecisionElite usa amostras de 20 rolhas/lote, em lotes inferiores a 50 000 rolhas, e a concentração máxima de haloanisóis aceite é de 2 ng/L.

Na produção de rolhas de cortiça aglomeradas e microaglomeradas e de rolhas técnicas (1+1) é utilizada uma cola, reduzindo a absorção de líquidos quando comparado com as rolhas naturais (58). Para que ocorra a difusão de água nestas rolhas é necessário que sejam sujeitas a temperaturas elevadas, entre 90ºC e 100ºC (51). Assim, procede-se à avaliação da qualidade do plano de colagem, da agregação do aglomerado nas rolhas aglomeradas e microaglomeradas e técnicas e da agregação dos discos com o corpo aglomerado nas rolhas técnicas. Esta avaliação é feita através do ensaio de resistência à água fervente, que se baseia na introdução das rolhas em água a ferver por 1 hora. Após este tempo verifica-se, visualmente, a qualidade da colagem através da existência de

desagregação do aglomerado e a existência de aberturas totais ou parciais nos planos de colagem. O ensaio é realizado em amostras de todos os lotes rececionados de rolhas técnicas (1+1) e das rolhas aglomeradas e microaglomeradas (caso seja pedido pelo cliente). Para a PrecisionElite, o critério de aceitação é a presença de 2% de descolagens parciais, totais e desagregação do plano.

3.2 Parâmetros sensoriais

As alterações sensoriais são causadas tanto por compostos de origem externa, por meio de agentes ou por desenvolvimento de microflora indesejável, mas também por compostos voláteis presentes naturalmente na cortiça, que apresentam aromas característicos que mais tarde são transferidos para o vinho, alterando as suas caraterísticas organoléticas (59,60). Porém, as alterações sensoriais dependem da concentração de composto, mas também do tipo de aroma, sendo que cada composto volátil apresenta um aroma característico a partir de uma dada concentração que é caraterizada como limite de perceção sensorial. Na tabela 5 estão descritos alguns dos compostos voláteis presentes naturalmente na cortiça, de acordo com a sua classe química, verificados após análise de algumas amostras utilizando a metodologia de GC-MS.

Tabela 6: Exemplo de alguns compostos voláteis identificados nas rolhas de cortiça (52,61–63).

	Composto	Aroma caraterístico	Limite de perceção sensorial em vinho
Álcoois alifáticos	1 – Octen-3-ol	Cogumelo, metálico	20 µg/L
	Benzaldeído	Amêndoa amarga	3 mg/L
Compostos aromáticos	Guaiacol	Fenólico, fumo	20 µg/L
	Vanilina	Baunilha	140 mg/L
Furanos	Furfural	Caramelo	65 mg/L
	5 – Metilfurfural	Tostado	35 mg/L
Compostos carbonílicos alifáticos	Hexanal	Erva	4,5 mg/L
Terpenóides	Linalol	Floral	50 mg/L
	Isoborneol	Cânfora, anis	-
	α – Terpeniol	Floral	400 mg/L
Outros	Benzotiazol	Borracha	50 µg/L

Os compostos voláteis foram agrupados de acordo com a sua classe química, tendo-se obtido principalmente álcoois alifáticos, compostos aromáticos, furanos, terpenóides e aldeídos, que resultam da degradação de ácidos gordos saturados e insaturados que podem ser degradados por autooxidação ou por ação da enzima lipoxigenase, originando compostos carbonilos voláteis (37,61). A cortiça contém compostos fenólicos derivados da degradação da cadeia polifenólica da suberina e da degradação térmica ou microbiológica da lenhina (64). As rolhas de cortiça possuem açúcares livres na sua composição, podendo estes compostos ser degradados e originar furanos, via reação de desidratação, por ação da temperatura no processo de cozedura, autoclavagem ou secagem da cortiça (65). Foi desenvolvida uma Roda de Aromas com o objetivo de sistematizar os diferentes aromas da cortiça que podem ter impacto positivo ou negativo no aroma do vinho (Figura 5). Os descritores de aroma estão agrupados em cinco grupos principais: musgo, químico, vegetal, conífero e bolor, que por sua vez podem ser associados a compostos voláteis presentes na cortiça.

Figura 12: Roda de Aromas da cortiça (36).

Geralmente, a caraterística de "cheiro a rolha" dos vinhos é atribuída ao TCA devido ao seu baixo limite de perceção sensorial, na ordem dos nanogramas por litro. As alterações sensoriais no vinho, induzidas pela quantidade de cada composto volátil ou pela quantidade resultante da simultaneidade de diferentes compostos, dependem de vários fatores tais como o tipo de vinho, as caraterísticas das castas de uvas utilizadas, o tempo de envelhecimento ou o teor de álcool (6,66). O ensaio sensorial olfativo é realizado de acordo com a norma ISO 22308 e consiste em detetar, qualificar e avaliar o odor transmitido para o meio (água ou vinho) (67).

A primeira avaliação de qualidade realizada pela PrecisionElite para a compra de rolhas é a análise sensorial, que permite detetar a presença de compostos voláteis capazes de provocar alterações no aroma dos vinhos e consequentemente definir a aceitabilidade do lote por parte da empresa. A empresa procede à análise sensorial, por maceração, de rolhas naturais e naturais colmatadas, visto que as rolhas técnicas (1+1) e as aglomeradas/microaglomeradas são constituídas por cola, o que dificulta tanto a identificação de aromas, como a sua intensidade. Os compostos voláteis presentes nas rolhas atingem o equilíbrio, após 24h, sendo transferidos para a solução, e assim avaliados sensorial e analiticamente por GC (68). Na PrecisionElite, a avaliação sensorial segue um método descritivo, onde os membros do painel usam o seu próprio vocabulário para

descrever e quantificar os atributos do produto. No caso das rolhas de cortiça, na PrecisionElite, é realizada uma análise sensorial ao aroma, sendo este avaliado através de descrições de odor, seguindo como guia a Roda de Aromas. O ensaio é conduzido por um provador treinado de forma a garantir resultados válidos, é realizado no laboratório da empresa e tem uma duração de cerca de 15-30 minutos. Nos registos sensoriais (Figura 13) constam as seguintes informações: calibre, tipo e classe da amostra; número total de frascos, número de amostras por frasco; e a matriz utilizada, que é geralmente a água. Os resultados são reproduzidos de acordo com o aroma detetado, intensidade (muito ligeiro, ligeiro, moderado, intenso ou muito intenso) e número de amostras em que se detetou esse aroma para posteriormente obter percentagem de rolhas contaminadas por lote. A interpretação dos resultados determina a aceitabilidade dos lotes por parte da empresa. Os parâmetros sensoriais são os mais importantes pois avaliam tanto a aceitabilidade dos lotes recebidos pela PrecisionElite como a qualidade das encomendas que são expedidas. Na hipótese de haver dúvidas na aceitação do lote, isto é, caso se verifique uma percentagem de rolhas contaminadas entre 2-4%, ou a pedido do cliente, procede-se à quantificação de haloanisóis. Na PrecisionElite são analisadas, no mínimo, 10 por cada 10 000 rolhas.

Além da avaliação dos parâmetros físico-químicos e sensoriais como controlo de qualidade numa indústria corticeira, é também importante seguir um conjunto de regras de boas práticas e higiene. Para tal, a empresa dispõe de uma lista de pré-requisitos de HACCP que permitiu estabelecer os parâmetros que pusessem em causa a segurança alimentar e as regras que deveriam ser implementadas de modo a melhorar o processo. Os pré-requisitos foram analisados e definidos de acordo com 5 grupos (Instalações, Processo Produtivo, Máquinas e Equipamentos, Higiene e Saúde Pessoal e Higienização das Instalações).

3.5 Metodologia HACCP

Para seguir uma metodologia HACCP é importante conhecer alguns conceitos (46,69):

- **Perigo:** qualquer contaminante ou condição do processo de produção do alimento que comprometa a segurança do seu consumo. Os perigos podem ser classificados de acordo com a sua natureza e são classificados como biológicos, químicos ou físicos:

a) Perigos biológicos: são os mais comuns e os que representam maior risco para a saúde do consumidor. Estes abrangem bactérias, leveduras e bolores.

b) Perigos químicos: abrangem pesticidas, resíduos de metais pesados, desinfetantes e agentes de limpeza, lubrificantes, toxinas e alergénicos.

c) Perigos físicos: incluem materiais estranhos como vidro, madeira, metais, papéis, plásticos duros e animais (pragas).

- **Risco:** cálculo da probabilidade de um determinado perigo ocorrer, afetando a segurança do produto. A probabilidade é classificada como: alto, médio e baixo.

Baixa (1) - Não corre ou a probabilidade é muito baixa (menor ou igual a uma vez por ano).

Média (2) - Probabilidade média de ocorrer (maior ou igual a duas vezes por ano e menor ou igual a doze vezes por ano).

Alta (3) - Probabilidade alta (maior ou igual a doze vezes por ano).

- **Severidade:** grau da gravidade de um perigo e é classificado como alto, médio e baixo.

Baixa (1) - Causa mais comum de surtos, com disseminação rara ou limitada. Pode causar alguma indisposição ou mal-estar.

Média (2) - Com consequências para a saúde, podendo resultar na necessidade de assistência médica e consequentemente de tratamentos médicos.

Alta (3) - Efeitos graves para a saúde, obrigando a internamento ou podendo inclusive causar a morte.

Após a classificação para a severidade e probabilidade das ocorrências, constrói-se uma matriz de avaliação de risco (Tabela 7) para definir as combinações consideradas.

		Severidade		
		Baixa (1)	Média (2)	Alta (3)
Probabilidade	Baixa (1)	1	2	3
	Média (2)	2	4	6
	Alta (3)	3	6	9

Figura 13: Severidade vs Probabilidade de ocorrência de um perigo (dados da PrecisionElite).

- **Análise de perigos:** identificação e avaliação de potenciais perigos químicos, físicos ou biológicos que representem riscos à saúde do consumidor, a nível da sua severidade e risco;

- **Medida de controlo:** ações adotadas para prevenir, eliminar ou reduzir um perigo para a segurança alimentar.
- **Ponto critico de controlo (PCC):** qualquer ponto, fase ou procedimento no qual se aplicam medidas de controlo para prevenir, eliminar ou minimizar perigos relacionados com os alimentos.
- **Limite critico:** valor máximo ou mínimo para o qual o perigo deve ser controlado de modo a prevenir, eliminar ou reduzir, para valores aceitáveis, a sua ocorrência. É um critério que diferencia a aceitabilidade ou inaceitabilidade do processo/produto.
- **Não conformidade:** não cumprimento dos limites críticos estabelecidos para os critérios selecionados;
- **Monitorização:** comprovação de que uma ação em cada PCC é corretamente efetuada ou está sob controlo. Envolve uma sequência de observações, medidas e/ou registos de fatores significativos exigidos para controlo.
- **Ações corretivas:** Procedimentos a serem empregues sempre que os critérios ou limites críticos estabelecidos não são atingidos.
- **Verificação:** aplicação de métodos, procedimentos e testes para validar o cumprimento do plano HACCP.
- **Validação:** obtenção de provas de que plano HACCP é eficaz.

A metodologia HACCP baseia-se em sete princípios (Figura 9) que servem de base para o aparecimento de um conjunto de princípios que surgiram com o Regulamento (CE) nº 852/2004 de 29 de abril (70,71). Deste modo, para a execução de um plano HACCP é necessário seguir doze etapas.

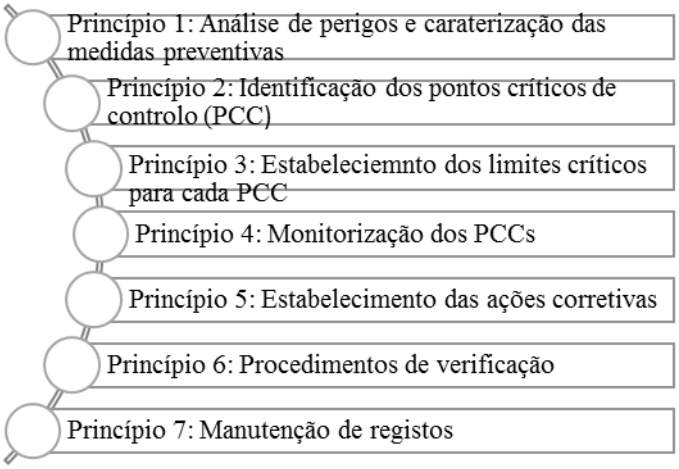


Figura 14: Descrição dos sete princípios do HACCP (72).

As instalações alimentares devem permitir o cumprimento das boas práticas de higiene, evitando as contaminações entre e durante os processos de fabrico.

Nas áreas circundantes da empresa, de modo a impedir o acesso de animais de pequeno porte, objetos e pessoas estranhas, os portões de acesso ao exterior mantêm-se sempre fechados, exceto em caso de receção e expedição de lotes de rolhas de cortiça. A área exterior da empresa é adequada e segura, cumprindo as normas do bom funcionamento e segurança alimentar dos produtos e serviços prestados pela PrecisionElite.

A empresa reconhece que o estado de conservação e limpeza das instalações é fundamental para o cumprimento das boas práticas de segurança alimentar. Assim, com o intuito de impedir contaminações direta ou cruzada do produto final, a PrecisionElite compromete-se a proceder à manutenção regular das instalações através da implementação e cumprimento do "Plano Geral de Limpeza (PL04)".

Os materiais de construção, como pavimentos, paredes, tetos, são não tóxicos, facilmente higienizáveis e impermeáveis. As instalações sanitárias da PrecisionElite cumprem as normas e permitem uma higiene pessoal adequada, sendo constituídas por lavatórios equipados com água fria, detergente líquido e toalhas de papel.

Adicionalmente, cada colaborador possui um cacifo, onde deve guardar os seus pertences, de modo a evitar possíveis perigos de contaminação.

A localização e disposição dos equipamentos é essencial para o bom funcionamento das operações, assim estas devem estar organizadas de modo a facilitar o acesso para uma

limpeza e manutenção adequadas. Mas para isso é essencial que as zonas sejam bem definidas, possuindo uma zona para matérias-primas, para produtos intermediários e finais. Na Figura 11 é mostrada o Layout das instalações.

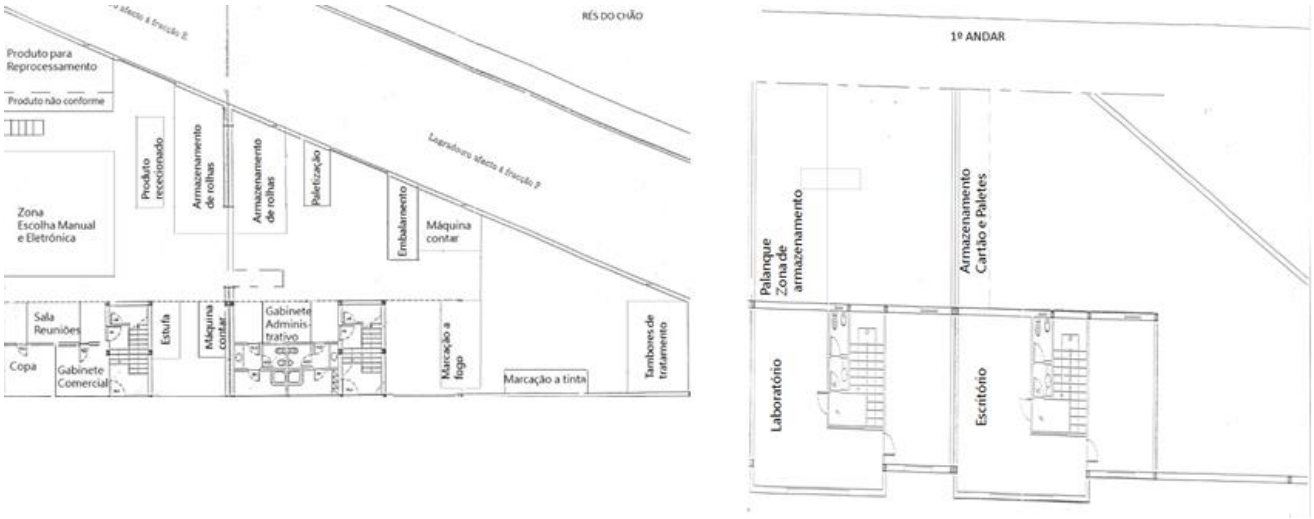


Figura 15: Layout das instalações da PrecisionElite.

O interior das instalações contém iluminação natural e artificial por luminárias, encontrando-se estas devidamente protegidas por armaduras de plástico para evitar possíveis perigos físicos. No momento da receção de rolhas, estas são inspecionadas nos registos "FR17 – Registo de Produtos" e "FR19- Registo de Entradas e Saídas") e posteriormente são armazenadas em embalagens adequadas (sacos de ráfia não natural ou contentores). Na receção de todos os produtos, químicos, materiais de embalagem ou lote de rolhas, é obrigatória a entrega de um Certificado Alimentar/Ficha Técnica e de Segurança, bem como o certificado de análise do lote do produto entregue, onde devem estar evidenciadas as regulamentações relativas aos materiais.

Na expedição, os materiais de embalagem devem ser recicláveis, de elevada duração, devem, portanto, seguir os requisitos legais. A PrecisionElite utiliza caixas de cartão, sacos de plástico e sacos de ráfia não orgânica para embalar os seus produtos e armazena-os na laje sobre paletes de madeira e/ou de plástico. É importante que a zona de armazenamento esteja limpa, seca, sem odores, arejada e bem organizada (ou seja, havendo separação de rolhas lavadas das não lavadas). As rolhas tanto podem estar em sacos de plástico com anidrido sulfuroso, como em sacos de ráfia, porém as caixas de cartão devem estar separadas fisicamente das rolhas qualquer que seja o tipo de embalagem. A

operacionalização e a exposição dos produtos ao meio ambiente devem ser reduzidas. No processo de acabamento, as rolhas são armazenadas em sacos de ráfia não natural ou em alcofas (limpas e secas) sobre paletes ou estrados de plásticos ou até mesmo em contentores devidamente identificados. Neste passo, são necessárias tomar precauções, como no caso de sobreposição de alcofas ou sacos com rolhas lavadas, em que o fundo dos recipientes superiores não pode estar em contato com as rolhas dispostas no recipiente inferior. O mesmo acontece com as rolhas lavadas e não lavadas que devem estar separadas e corretamente identificadas para evitar a contaminação cruzada.

Os produtos químicos utilizados neste processo devem estar armazenados num local adequado, protegidos do calor e humidade, para que as suas caraterísticas físico-químicas não sejam alteradas e devidamente identificados (lote, referência e data de validade). Antes do seu uso, é importante que o operador verifique as condições de utilização, cuidados a ter, assim como os prazos de validade.

Na PrecisionElite nenhum produto deve ser expedido sem serem garantidos os parâmetros de qualidade definidos e sem autorização do responsável do controlo de qualidade ou responsável de produção. Após a realização dos ensaios de controlo de qualidade, os relatórios são enviados ao cliente.

Todas as regras relativas ao embalamento e armazenamento do produto rececionado são aplicáveis ao produto acabado, devendo os sacos e caixas para embalamento estarem em boas condições (limpos, sem rasgos, sem odores, espessura suficiente) de modo a garantir a integridade do produto até ao seu destinatário.

Para o transporte do produto, os veículos e contentores têm de ser cobertos, limpos, sem odores e livre de produtos suscetíveis de contaminação. A empresa realiza um registo "FR10- Estado de Limpeza do Transporte" de cada inspeção feita a todos os veículos que efetuem o transporte do produto.

Perante a presença de materiais estranhos ao processo, tais como vidros, metais, plásticos, é necessário proceder imediatamente à sua remoção. Em vista disso, é extremamente proibido o uso de utensílios de vidro na zona de produção, enquanto utensílios de outros materiais podem ser utilizados, porém estes devem estar conformes. No entanto, a empresa possui um "Plano de Manutenção de Equipamentos de Produção (PL03)", com o intuito de controlar as possíveis contaminações com partículas de metais e outros resíduos provenientes da operação de manutenção. O "Plano de Manutenção de

Equipamentos de Produção (PL03)", "Plano de Manutenção de Equipamentos Laboratoriais (PL07)" e "Plano Geral de Limpeza (PL04)", implementados pela empresa, permitem manter o bom estado de funcionamento, conservação e limpeza dos equipamentos de modo a prevenir/reduzir possíveis contaminações. Os produtos químicos utilizados (limpeza, lubrificação e outros) devem serem aptos a estarem em contato com produtos alimentares.

Os operadores são muitas vezes os responsáveis pelas contaminações, uma vez que os microorganismos podem desenvolver-se em determinadas partes do corpo, como cabelo, nariz, boca, pele. É fundamental proceder a uma boa higiene pessoal e assumir a responsabilidade a nível do estado de saúde de modo a evitar o risco de contaminações das rolhas. Na PrecisionElite, os colaboradores são sujeitos a um exame médico, anual ou de dois em dois anos, realizado por uma entidade externa, para garantir o cumprimento da legislação a nível da Medicina do Trabalho. Em caso de doenças infeciosas/contagiosas, o operador é imediatamente impedido de contatar com as várias áreas de produção. Quando se verificam cortes, queimaduras e feridas, estas têm de estar totalmente protegidas com pensos impermeáveis e/ou luvas.

Após a descrição dos pré-requisitos, pode-se desenvolver o plano HACCP, que consiste em identificar e analisar os perigos específicos e as medidas para o seu controlo, de modo a assegurar a segurança dos produtos. O sistema aborda um estudo detalhado de todo o processo pelos quais as rolhas passam na PrecisionElite. A primeira fase consistiu na investigação das condições de segurança alimentar existentes nas instalações através do preenchimento de uma check-list formulada pela Céliege (European Cork Federation) e posteriormente análise das medidas que podem ser tomadas para reduzir a sua ocorrência para níveis aceitáveis.

O controlo de qualidade realizado pela PrecisionElite permite identificar os pontos críticos do seu processo produtivo onde devem ser aplicadas medidas de controlo, de modo a eliminar ou minimizar os perigos, através da construção de um fluxograma. O fluxograma relativo ao processo produtivo da PrecisionElite encontra-se na Figura 12.

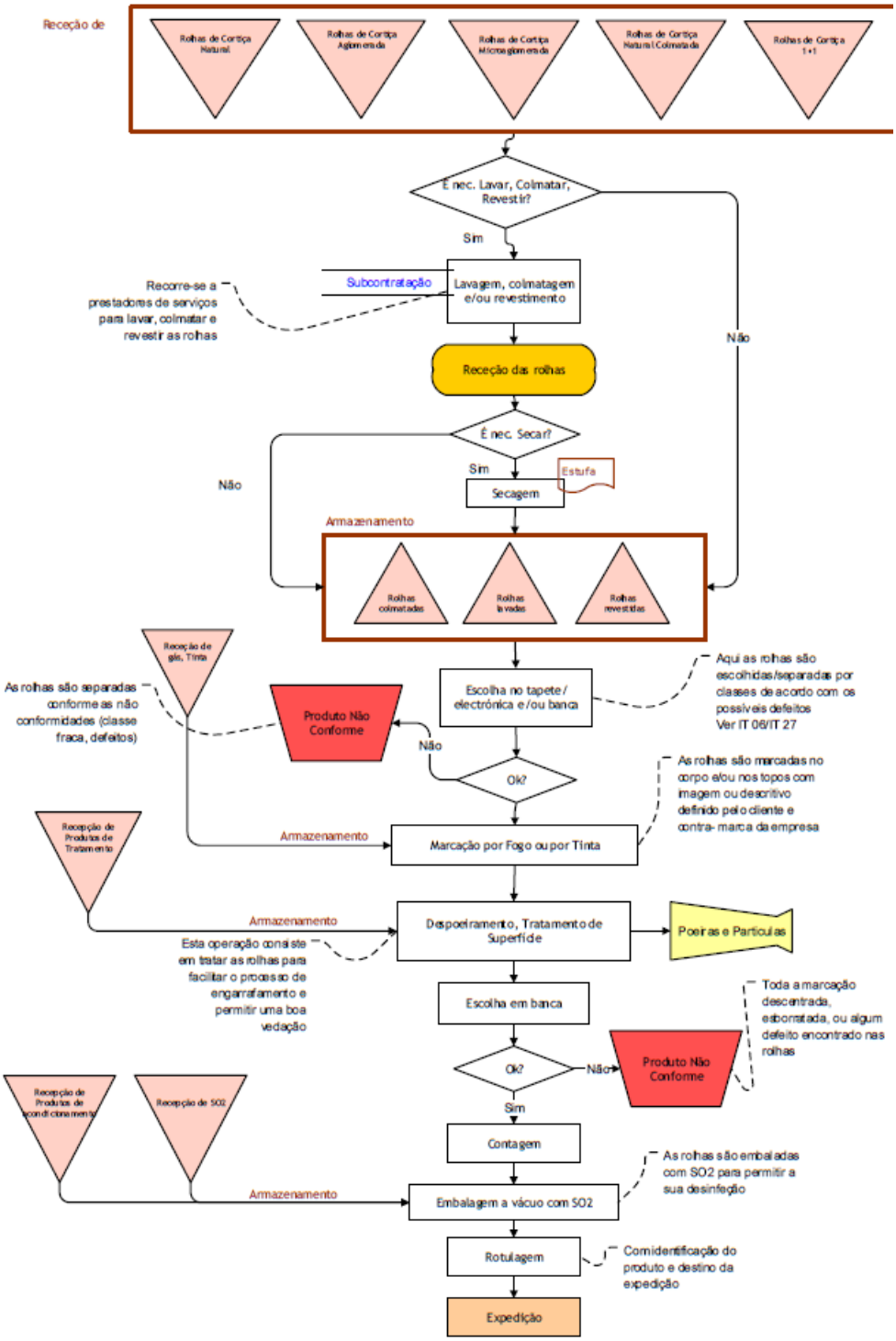


Figura 16: Processo produtivo da PrecisionElite.

A matéria-prima (rolhas de cortiça natural, aglomeradas, microaglomeradas, colmatadas e rolhas técnicas 1+1) provém de fornecedores qualificados. No momento da sua receção, o operador ou responsável da produção e/ou do laboratório verifica se estas estão conformes. Nesta fase é preenchido um documento de receção onde consta

informação importante para rastreabilidade do produto (Fornecedor, Número de Guia, Número de Lote, Calibre das rolhas, Qualidade, Tipo de lavação, Quantidade e Número de sacos). A empresa certifica se as rolhas estão lavadas ou se são para lavar, colmatar ou revestir. Caso seja necessário um destes serviços, as rolhas são enviadas para empresas externas, selecionadas pela empresa, para efetuar os respetivos processos, caso contrário as rolhas são armazenadas para entrar no processo produtivo. Após os processos prestados por outrem, as rolhas são novamente rececionadas e identificadas antes do armazenamento. Se tiverem teor de humidade elevada são secas na estufa.

A posteriori, as rolhas de cortiça são escolhidas em tapete, banca e/ou máquina de escolha manual, de acordo com a classe padrão e defeitos, que são identificados como produto não conforme.

As rolhas que passam para o processo seguinte, são marcadas com imagem ou descritivo aprovado pelo cliente e contra-marca da empresa, a fogo ou tinta, com exceção dos topos que só podem ser a fogo. Segue-se um processo de despoeiramento e tratamento de superfície, que se realiza num tambor giratório com produtos à base de emulsões de parafina e silicone, a fim de lubrificar a rolha, facilitando o engarrafamento e assegurando uma boa vedação aos líquidos. Após o tratamento, as rolhas são novamente escolhidas de modo a remover as rolhas mal marcadas ou rolhas com defeito crítico ou de classe fraca.

No momento anterior à expedição, as rolhas são contadas automaticamente para os sacos de embalar, que são selados com SO_2 a fim de proceder à desinfeção das rolhas. Os sacos são acondicionados em caixas de cartão ou sacos de ráfia, conforme indicação do cliente e colocados em paletes de madeira tratada HT ou de plástico, cintadas e filmadas.

O fluxograma do processo produtivo da PrecisionElite foi verificado pela equipa HACCP, tendo-se confirmado a sua adequação. Todas as etapas foram acompanhadas de forma a validar o fluxograma elaborado e assim identificar e analisar os perigos onde é necessário aplicar medidas de controlo, de modo a eliminar ou minimizar os perigos para níveis aceitáveis, seguindo para tal um método sistemático representado por um fluxograma (Figura 18).

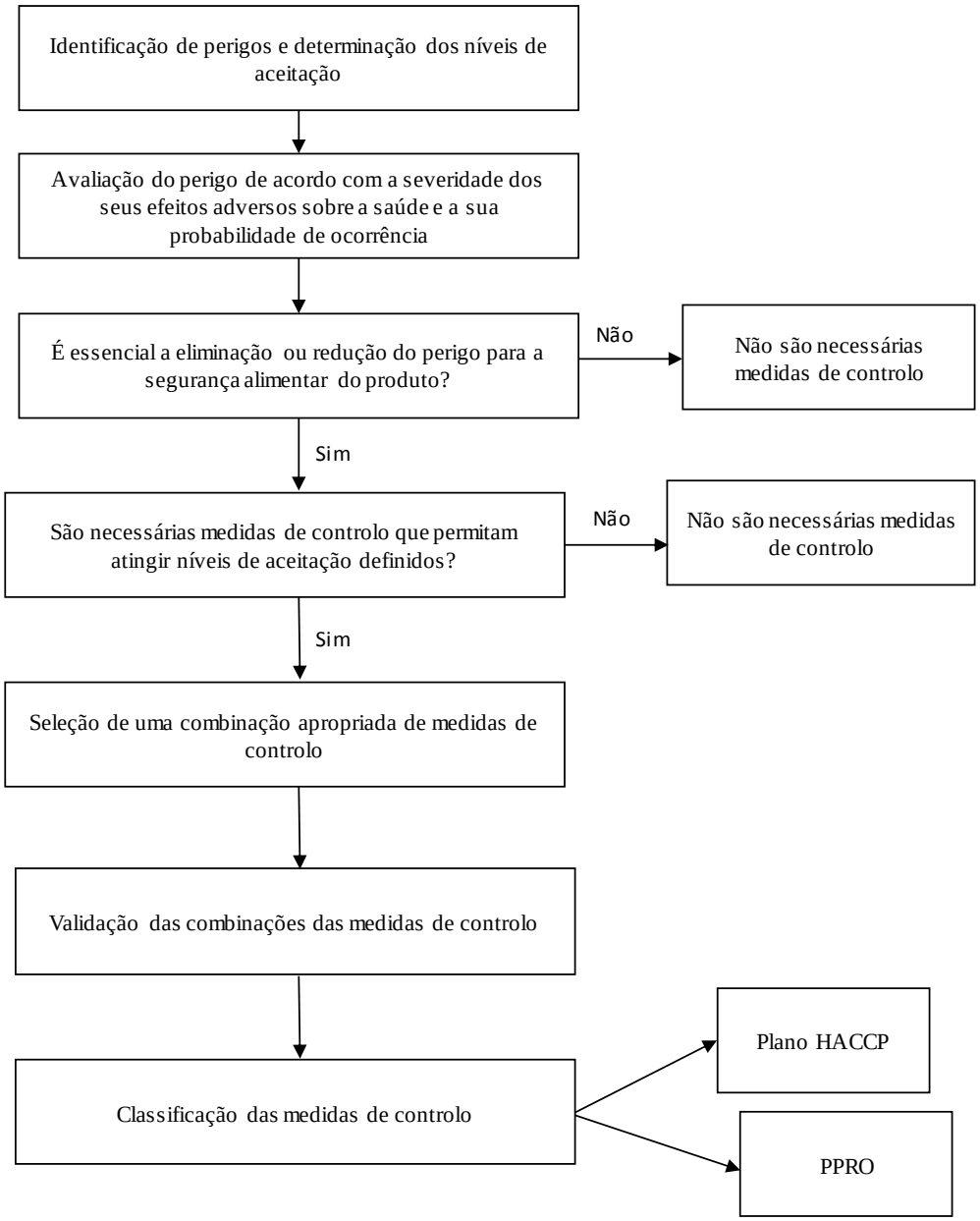


Figura 17: Fluxograma sistemático de Identificação de Perigos.

Sempre que o índice de risco é superior ou igual a 3 (o perigo é relevante) ou quando não existem dados para quantificar a probabilidade e a severidade, deve-se proceder à construção de uma Árvore de Decisão. Por outro lado, quando o índice de risco é menor do que 3, o perigo não é relevante, não havendo necessidade de aplicação da Árvore de Decisão, sendo o perigo controlado pelo "Programa de Pré-Requisitos (PPR)- PR13" e pela aplicação das boas práticas de higiene e fabrico. O "Programa de Pré-Requisitos – PR13" permite definir um conjunto de requisitos na qual a PrecisionElite tenta manter controlados

ao longo de todo o processo. Esses requisitos devem-se basear nas caraterísticas estruturais, mas também específicas ao seu serviço para garantir a segurança alimentar.

A PrecisionElite procedeu ao registo dos potenciais perigos em cada fase do processo e a respetiva classificação (química, física ou biológica) e para cada perigo avaliou-se a probabilidade de ocorrência, assim como a sua severidade, causas e medidas corretivas.

Após seleção e avaliação das medidas de controlo, são definidas as etapas onde estas devem ser aplicadas com a finalidade de controlar os perigos considerados relevantes para garantir a segurança alimentar. Se houver necessidade de se aplicar medidas de controlo em alguma etapa do processo de modo a prevenir, eliminar ou minimizar perigos relacionados com os alimentos, são então considerados pontos críticos de controlo (PCCs) e são geridas no Plano de HACCP. Caso contrário, são considerados PPROs sendo geridos pelo "Programa de Pré-Requisitos Operacionais (PL09)".

A determinação específica e concreta dos PCCs e PPRO é realizada com base numa Árvore de Decisão (Figura 19). A Árvore de Decisão consiste num protocolo que abrange uma sequência de questões que devem ser aplicadas a cada etapa do processo e que permite determinar se um dado ponto de controlo é ou não um PCC para aquela fase do processo. Assim, a PrecisionElite procede ao registo dos possíveis perigos em cada uma das etapas do processo produtivo, e consequente análise quanto à sua probabilidade de ocorrência e severidade, assim como as medidas preventivas, medidas de controlo e identificação dos PCCs.

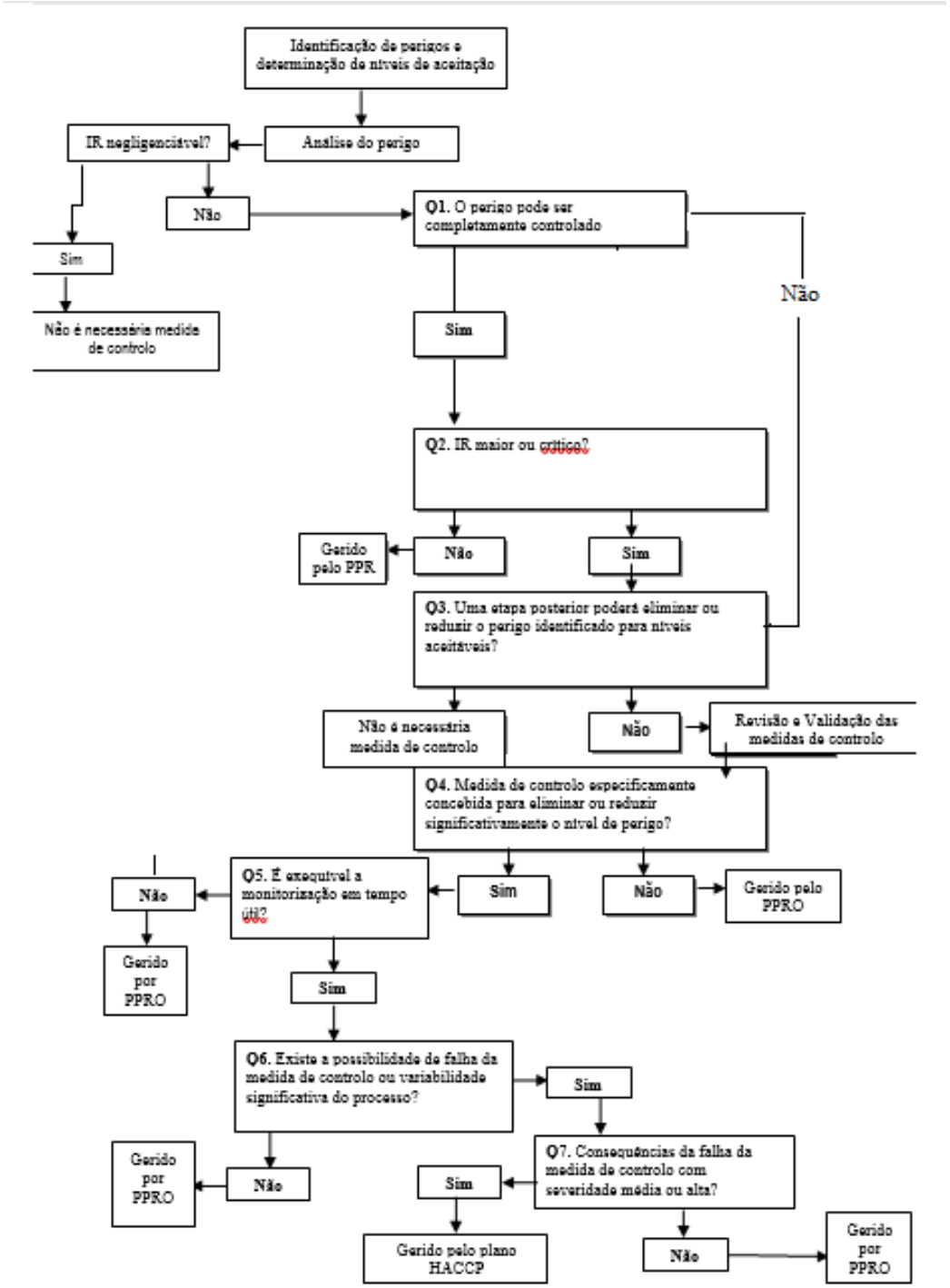


Figura 18: Árvore de Decisão adotada pela PrecisionElite.

A fim de definir a aceitabilidade ou inaceitabilidade, em termos de segurança do produto, é necessário delinear critérios para cada PCC. Os critérios incluem medições de temperatura, tempo, humidade e parâmetros sensoriais (textura, aroma, aspeto). No caso

da PrecisionElite, esta estabelece limites críticos para os PCCs identificados e regista-os num Plano de HACCP.

É necessário estabelecer um sistema de monitorização para cada PCC, permitindo avaliar se os parâmetros de controlo associados a cada PCC, se os respetivos limites críticos estão a ser respeitados. O controlo dos PPROs deve também ser monitorizado através do sistema de modo a verificar se as medidas de controlo definidas para estes estão sob controlo. A monitorização dos PCCs na PrecisionElite é registada no respetivo campo do Plano de HACCP e no "Programa de Pré-Requisitos Operacionais (PL09)" com a descrição dos métodos e frequência de monitorização, assim como o colaborador responsável. Este sistema auxilia a gerência e o responsável da qualidade a estabelecer ações corretivas a fim de manter o processo controlado.

Na presença de um desvio dos limites críticos de um PCC é necessário estipular medidas corretivas específicas e registá-las no Plano de HACCP, juntamente com o nome do responsável pela sua implementação e o modo de registo.

A PrecisionElite dispõe de procedimentos de verificação, que são úteis para assegurar o cumprimento e eficácia do Sistema de Gestão de Segurança Alimentar, sendo necessário verificar se o definido no Programa de Pré-Requisitos, Plano de HACCP, Programa de Pré-Requisitos Operacionais e no Manual da Qualidade e Segurança Alimentar (MSGI), no que diz respeito às boas práticas de higiene e fabrico, está efetivamente a ser colocado em prática. Neste sentido, os colaboradores da empresa (pertencente à Equipa de Segurança Alimentar ou não) são responsáveis pela verificação do plano que posteriormente deve ser aprovado pela Gerência. Os procedimentos de verificação devem incluir a identificação e planeamento, em reuniões, das ações a desenvolver, assim como o responsável pela realização das mesmas e as datas previstas para a sua conclusão. Este registo deve garantir a concretização e implementação do definido no Estudo de Segurança Alimentar. As atividades de verificação na PrecisionElite consistem em auditorias, análises laboratoriais, validação do Estudo de Segurança Alimentar através do Programa de Pré-Requisitos, Plano de HACCP e Programa de Pré-Requisitos Operacionais, e no Plano de Verificação de Segurança Alimentar.

De modo a garantir a implementação, desenvolvimento e atualização do sistema HACCP é necessário que todos os procedimentos estejam documentados. Para tal, a PrecisionElite dispõe de um dossier onde incorpora os diversos documentos, internos e

externos, e registos requeridos para a implementação do sistema HACCP. Os documentos internos estão divididos em nove categorias, sendo estas:

Tabela 7: Codificação dos documentos internos na PrecisionElite.

Sigla	Documento
MSGI	Manual da Qualidade e de Segurança Alimentar
CEV/ CEC/ CES	Cadernos de Encargos de Vendas/ Compras/ Serviços
Mod	Modelos de Documentos internos
PR	Procedimentos
FR	Folhas de Registo
IT	Instruções de Trabalho
ME	Métodos de ensaio
FT	Ficha técnica de produto
PL	Planos

A elaboração/ revisão dos documentos internos é da responsabilidade do responsável da Segurança e Qualidade Alimentar e da Gerência, que se comprometem a elaborá-los de modo a cumprir os requisitos das Normas ISSO 9001, HACPP e alguns requisitos ISSO 22000. Todos os documentos (internos e externos) e registos são guardados no mínimo durante 5 anos.

4. Parte Experimental

4.1 Amostragem

No presente trabalho foram avaliados os parâmetros físico-químicos e sensoriais de rolhas de cortiça naturais com revestimento e sem revestimento, rolhas colmatadas rolhas microaglomeradas/aglomeradas e rolhas técnicas (1+1). A amostragem relativa aos ensaios físico-químicos (força de extração, humidade, dimensões, ovalização, massa volúmica e teor de resíduos sólidos encontra-se na Tabela 8. Quanto à análise sensorial e quantificação de haloanisóis, a amostragem está representada na Tabela 9. Todos os resultados foram obtidos durante o período de janeiro de 2018 a abril de 2018.

Tabela 8: Amostragem dos respetivos ensaios realizados.

Ensaios realizados	Tipos de rolha	*Nº de lotes*
Força de extração	Rolhas naturais com revestimento	28
	Rolhas naturais sem revestimento	12
	Rolhas colmatadas	46
	Rolhas técnicas 1+1	5
	Rolhas microaglomeradas	24
Dimensões, Ovalização, Massa Volúmica	Rolhas naturais com revestimento	26
	Rolhas naturais sem revestimento	11
Humidade	Rolhas naturais com revestimento	41
	Rolhas naturais sem revestimento	30
	Rolhas colmatadas	46
	Rolhas técnicas 1+1	5
	Rolhas microaglomeradas	24

Tabela 9: Amostragem da análise sensorial e quantificação de haloanisóis.

Ensaios realizados	Tipos de rolha	Nº de lotes
Análise sensorial	Rolhas naturais	80
	Rolhas colmatadas	7
Quantificação de haloanisóis	Rolhas naturais	32
	Rolhas colmatadas	2

4.2 Parâmetros físico-químicos

As tabelas de amostragem encontram-se no anexo A.

A determinação da capilaridade tem como objetivo avaliar a capacidade da rolha de cortiça em absorver a solução alcoólica. Para tal, preparou-se uma solução hidroalcoólica a 12% (v/v) corada com azul de metileno a partir de uma solução de etanol com teor superior

a 99,9% (v/v). Colocou-se a solução hidroalcoólica corada numa caixa de Petri, até cerca de 5 mm de altura. Posteriormente, colocou-se os topos de, pelo menos, 6 rolhas por cada lote a analisar, em caixas de Petri e deixou-se repousar por 24h. Após este tempo, verificou-se se houve progressão a solução à superfície da rolha (Figura 21). Caso houvesse progressão, esta era medida com uma régua, sendo os resultados expressos em milímetros (mm) e arredondados à unidade.

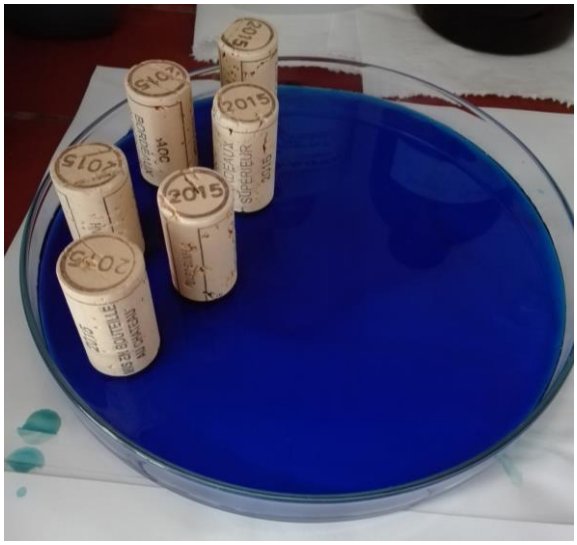


Figura 19: Ensaio da capilaridade.

A determinação da vedação ou estanquicidade do líquido, baseado na Norma Portuguesa 2803-5:1996 – Rolhas de Cortiça – Ensaios físicos – Parte 5: comportamento à vedação, tem como objetivo verificar se há progressão da solução hidroalcoólica na interface rolha-vidro e no interior da rolha quando esta é sujeita a determinadas pressões. Primeiramente, as rolhas são introduzidas nos tubos de vidro, que simulam o gargalo da garrafa, através de uma rolhadora automática e deixou-se estabilizar no mínimo 1 hora. Após esse tempo, verteu-se para cada tubo cerca de 2,5 mL da solução hidroalcoólica corada com azul de metileno preparada para o ensaio anterior. Utilizando a solução hidroalcoólica corada com azul de metileno preparada para o ensaio anterior. Colocou-se os tubos numa árvore de vedação, da marca Egitron, e aguardou-se 10 minutos. De seguida, ligou-se o manómetro para uma pressão de 0,5 bar e deixou-se 10 minutos e aumentou-se a pressão para intervalos de 0,5 em 0,5 bar, até 2 bar, com intervalos de 10

minutos. Durante estes intervalos, verificou-se a existência de fuga da solução hidroalcoólica corada e caso houvesse, registava-se a pressão em que ocorreu a fuga, assim como o número de rolhas que suportaram essa pressão. Os resultados são expressos em percentagem de rolhas vedantes, ou seja, rolhas que não apresentaram fugas à pressão indicada.

Figura 20: Ensaio da determinação da vedação ou estanquicidade do líquido.

A determinação da força de extração, baseado na Norma Portuguesa 2803-4:1996 – Rolhas Cilíndricas – Ensaios físicos – Determinação da força de extração, tem como objetivo verificar o sucesso do tratamento de superfície. As rolhas foram introduzidas NOS gargalos das garrafas através de uma rolhadora automática e deixou-se estabilizar cerca de 1 hora. Posteriormente, aplicou-se o saca-rolhas na rolha e coloca-se a garrafa num aparelho de medição da força de extração da marca Extralab. Os resultados são expressos em decaNewton (daN) e arredondados às décimas. Para o resultado final faz-se a média aritmética dos resultados obtidos.

Figura 21: Medição da força de extração.

A determinação da humidade, baseada na Norma Portuguesa: NP ISSO 9727-3:2011 – Rolhas de cortiça cilíndricas, ensaios físicos, determinação de humidade, permite obter a percentagem de humidade presente no interior das rolhas de cortiça. A determinação das dimensões, ovalização e massa volúmica das rolhas possibilita assegurar as especificações do cliente e baseiam-se na Norma Portuguesa ISO 9727-2:2011 – Rolhas de cortiça cilíndricas – Ensaios físicos – Determinação da massa e da massa volúmica aparente para rolhas de cortiça aglomeradas. Ambos os ensaios são realizados num aparelho de sistema automático de medição, Medcork, da marca Egitron, que está ligado a um computador, sendo que todas as medições são transferidas diretamente para um relatório, via software específico. A humidade é medida no corpo das rolhas, através de um higrómetro de agulhas com dois elétrodos incorporado no Medcork. Os resultados são expressos em percentagem de humidade arredondados às décimas. As dimensões e ovalização são calculadas através das fórmulas abaixo mostradas e são expressas em milímetros e arredondados às décimas:

$$\text{Ovalização} = |D_1 - D_2|$$

$$D = \frac{D_1 + D_2}{2}$$

Em que:

D= Diâmetro.

A massa volúmica é expressa em kg/m^3 e é obtida a partir da fórmula:

$$\rho = \frac{m x 10^6}{\pi x \left(\frac{d}{2}\right)^2 x L}$$

Em que:

m: Massa da rolha.

d: Diâmetro da rolha.

L: Comprimento da rolha.

Π: 3,14.

A determinação do teor de peróxidos de hidrogénio baseia-se na Norma Portuguesa 4502:2011 – Rolhas de Cortiça – Determinação de resíduos de peróxidos. Assim, preparou-se uma solução de ácido acético a 0,2% (v/v) a partir de uma solução de ácido acético ≥ 99,8% (v/v). De seguida, retirou-se 100 mL da solução de ácido acético a 0,2% (v/v) para um Erlenmeyer, onde foram colocadas 3 rolhas da amostra a analisar e tapou-se com parafilm. Colocou-se o Erlenmeyer num agitador, durante 1 hora a 130 rpm. Ao fim desse tempo, retirou-se o parafilm e introduziu-se, na solução, a tira do Kit Quantofix Peroxide 25, da marca Sigma-Aldrich, e compara-se a cor obtida na tira com a indicada na embalagem. O teor é expresso em mg/rolha.

A determinação do teor de resíduos sólidos ou quantificação de pó, baseado na Norma Portuguesa ISSO 9727-7:2010 – Rolhas de Cortiça Cilíndricas – Ensaios físicos – Parte 7: Determinação de resíduos sólidos, tem como objetivo quantificar o pó libertado pelas rolhas de cortiça após o tratamento de superfície. Inicialmente, pesou-se um vidro de relógio, juntamente com uma membrana de porosidade de 1,2 µm, numa balança analítica (m_i). De seguida, introduziu-se, num Erlenmeyer, 250 mL da solução hidroalcoólica a 12%, juntamente com 4 rolhas, e colocou-se num agitador por 20 minutos a 140 rpm. Após

este tempo, filtrou-se a solução, utilizando a membrana previamente pesada, e com auxílio de uma bomba de vácuo. Depois de toda a solução estar filtrada, cortou-se o vácuo, retirou-se a membrana, colocou-se novamente no vidro de relógio e deixou-se a secar na estufa por 24 horas. No fim, pesou-se o conjunto: membrana e vidro de relógio e registou-se a massa final (m_f). O teor foi medido através da fórmula:

$$Teor_{Residuos} = \left(\frac{m2 - m1}{n} \right)$$

Os resultados são expressos em miligramas por rolha (mg/rolha) e arredondados às décimas.

A quantificação de haloanisóis baseia-se na ISO 20752 Bouchons de liège – Dosage du 2,4,6- tricloroanisol (TCA) relégable e tem como objetivo quantifica-los no macerado de rolhas de cortiça. A preparação do macerado consistiu em colocar 20 rolhas do lote a analisar num frasco de vidro de 1 litro com vinho branco (teor alcoólico de 12% (v/v)), de modo a que as rolhas ficassem imersas e deixou-se repousar. Após 24h, transferiu-se a solução aquosa para um frasco de vidro de 100 mL e este foi enviado, corretamente assinalado, para um laboratório externo. Os resultados dos ensaios efetuados referem-se à quantificação de 2,4,6-tricloroanisol (TCA), 2,3,4,6-tretacloroanisol (TeCA), 2,4,6-tribromoanisol (TBA) e pentacloroanisol (PCA) em ng/L. Os limites de quantificação (LQ) é e de deteção (LD), ajustados pelo laboratório externo, são 0,5 ng/L e 0,3 ng/L, respetivamente.

4.3 Parâmetros sensoriais

A análise sensorial permite assegurar a qualidades das rolhas de cortiça, assim como avaliar as caraterísticas sensoriais das rolhas com o objetivo de avaliar a aceitabilidade das rolhas compradas por parte da PrecisionElite. O método baseia-se na ISO 22308:2005 – Bouchons en Liège – Analyse sensorielle e é utilizado como ensaio descritivo, o perfil de escolha livre. Por cada 10000 rolhas, foram avaliadas, no mínimo, 10 rolhas.

Para a realização do ensaio foram colocadas 5 rolhas da amostra a analisar em frascos de vidro de 250 mL, com tampa, e adicionou-se água destilada, até que estas ficassem imersas. Os frascos foram tapados e deixados a repousar por 24h. Após esse tempo, abriu-se os frascos e cheirou-se. Caso o macerado apresentasse um aroma

indesejado, cheirava-se cada uma das rolhas desse frasco e comparava-se o aroma detetado com os aromas representados na roda de aromas da cortiça e atribuía-se uma intensidade (ligeiro, moderado, intenso ou muito intenso). Os odores eram facilmente detetados pelo painel de provadores, que na PrecisionElite, é constituído pela engenheira química da empresa.

Os resultados eram registados de acordo com o descritor do aroma detetado, a sua intensidade, assim como o número de frascos em que esse aroma foi detetado e o número de rolhas que apresentaram esse aroma a fim de se obter a percentagem de rolhas contaminadas por lote (a ficha de prova da análise sensorial encontra-se no Anexo B).

4.4 Tratamento de dados

Para o parâmetro de força de extração foi determinada a média dos valores obtidos de cada lote para rolhas naturais com revestimento, rolhas naturais sem revestimento, rolhas colmatadas, aglomeradas/microaglomeradas e rolhas técnicas 1+1 e posteriormente determinou-se a média, gama e desvio padrão da média dos valores obtidos, através do programa Excel for Windows da Microsoft, versão 2016. De seguida, para os resíduos sólidos foi determinada a média dos valores obtidos de cada lote para rolhas naturais com revestimento, rolhas naturais sem revestimento e rolhas colmatadas. A humidade foi determinada através da média dos valores obtidos de cada lote para rolhas naturais, rolhas colmatadas, aglomeradas/microaglomeradas e técnicas 1+1. E, finalmente, para as dimensões, ovalização e massa volúmica, utilizou-se o método anteriormente descrito e o mesmo programa para rolhas naturais com revestimento rolhas naturais sem revestimento. Para estudar a relação entre os diferentes parâmetros: teor de resíduos sólidos e força de extração, força de extração e teor de humidade e dimensões e humidade foram realizados gráficos de três variáveis através do programa Excel for Windows da Microsoft, versão 2016.

5. Resultados e Discussão

5.1 Parâmetros físico-químicos

Os resultados referentes à determinação da força de extração encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10: Força de extração (em daN) dos diferentes tipos de rolha.

Tipos de rolha	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas Naturais sem revestimento	21,4	16,6 – 28,0	2,92
Rolhas Naturais com revestimento	21,1	16,7 – 25,4	2,39
Rolhas Colmatadas	21,0	14,3 – 24,6	1,89
Rolhas Microaglomeradas	17,8	12,6 – 22,9	2,62
Rolhas Técnicas 1+1	19,2	17,1 - 23	2,43

Os valores aceites, pela PrecisionElite, para a força de extração para as rolhas analisadas, tal como referido anteriormente, devem-se encontrar entre 15 e 45 daN após, no mínimo, 1h de repouso após engarrafamento. Pela Tabela 8 verifica-se que todos os valores se encontram nessa gama, sendo um resultado esperado. Ao compararmos a média dos valores de força de extração das rolhas naturais sem revestimento (21,4 daN) com as médias dos valores de força de extração das rolhas naturais com revestimento (21,2 daN) e naturais colmatadas (21,0 daN), verificamos que a média da força de extração das rolhas naturais sem revestimento é mais elevada. Estes resultados são esperados, dado que, quer o revestimento das rolhas naturais, quer o processo de colmatagem, são à base de resinas e estas promovem a impermeabilidade, resistência ao desgaste e aos ataques químicos e microbiológicos, assim como promovem a lubrificação (73).

Os resultados obtidos no ensaio da determinação de resíduos sólidos encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11: Resíduos sólidos (em mg/rolha) dos diferentes tipos de rolha.

Tipos de rolha	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas Naturais sem revestimento	0,5	0,1 – 0,8	0,29
Rolhas Naturais com revestimento	0,4	0,1 – 0,8	0,23
Rolhas Colmatadas	0,6	0,3 – 1,2	0,43

Na Tabela 11 estão representados os valores médios da quantidade de resíduos sólidos nas rolhas naturais sem revestimento e com revestimento e rolhas colmatadas. Podemos verificar que estão de acordo com os resultados esperados, pois os teores obtidos estão abaixo do limite de aceitação: 2 mg/ rolha.

Os resultados da comparação da quantidade de resíduos sólidos presentes nas rolhas de cortiça e a força de extração estão presentes na Figura 23. Verificamos que a quantidade de resíduos sólidos presente nas rolhas não influenciou a força de extração. No caso das rolhas colmatadas, o relatório nº 49 apresenta maior quantidade de pó libertado (1,2 mg/rolha) e os relatórios nºs 160 e 173 apresentam menor quantidade de pó (ambos com 0,3 mg/rolha). No entanto, estas rolhas apresentam uma média de força de extração de 21,9 daN, 23 daN e 23,4 daN, respetivamente, indicando que não há relação direta entre a quantidade de resíduos sólidos e a força de extração. O mesmo se verifica nos outros tipos de rolhas: naturais com e sem revestimento. Desta forma, os resíduos sólidos apenas afetarão a força de extração se se encontrarem acima do limite de aceitação: 2 mg/rolha. Tais valores permitem também comprovar os valores esperados da força de extração, mostrando o teor de resíduos sólidos presente nas rolhas, não influenciou a extração das rolhas das garrafas.

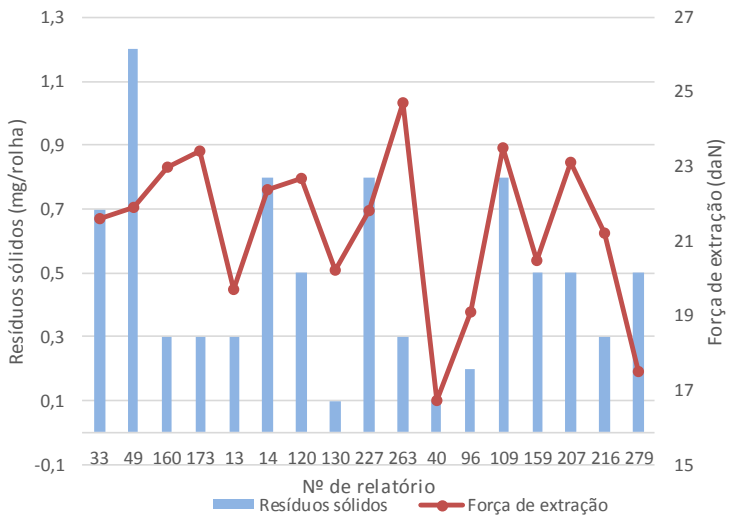


Figura 22: Teor de resíduos sólidos libertados (em mg/rolha) e força de extração (em daN) de rolhas colmatadas (relatórios nºs 33, 49, 160 e 173), naturais sem revestimento (relatórios nºs 13, 14, 120, 130, 227 e 263) e naturais com revestimento (relatórios nºs 40, 96, 109, 159, 207, 216 e 279).

Os resultados obtidos referentes à determinação da humidade encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12: Determinação da humidade (em %) dos diferentes tipos de rolha.

Tipos de rolhas	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas Naturais	5,3	3,6 – 7,0	0,72
Rolhas Colmatadas	5,7	4,3 – 7,8	0,76
Rolhas Microaglomeradas	4,8	3,6 – 6,9	0,75
Rolhas Técnicas 1+1 (corpo)	5,4	4,6 – 6,3	0,74
Rolhas Técnicas 1+1 (discos)	5,8	4,8 – 6,7	0,83

Relembrando que os valores aceites para o teor de humidade é entre 4 e 8%, através da Tabela 12 podemos verificar que os resultados obtidos estão dentro do intervalo. A humidade é o parâmetro mais facilmente controlado, uma vez que, quando a humidade é inferior a 4% as rolhas sofrem um processo de hidratação, quando é superior a 9% , estas devem ser secas (6). Apesar da cortiça apresentar uma certa impermeabilidade devido à sua composição química, a parede celular consegue absorver água por difusão, por isso é que existe diferenças no teor de humidade em rolhas do mesmo lote e entre lotes. A absorção de água, através da penetração nas células fechadas da cortiça, é um processo lento e

contribui para um aumento da massa, do volume e da dimensão da rolha (51,58,74). A difusão ocorre como consequência de um gradiente de concentração entre as duas extremidades da rolha de cortiça e a penetração da água nas células da cortiça ocorre por um mecanismo de evaporação-condensação. A condensação diminui a pressão de vapor nas células, induzindo uma maior vaporação das paredes celulares para as células (51,58).

As propriedades elásticas das rolhas de cortiça são afetadas pela humidade, alterando, consequentemente, as propriedades de compressão e inserção (55). Caso a humidade for muito baixa, as propriedades elásticas ficam comprometidas, ou seja, a rolha não conseguirá fazer uma pressão uniforme ao longo do gargalo da garrafa ao fim de 1h, logo a força necessária para extrair a rolha será maior. Através da Figura 24 verificamos que as rolhas naturais sem revestimento, correspondentes ao relatório nº 162, apresentam maior média de força de extração, 28 daN, mas um teor de humidade relativamente baixo, 5,3%. Por outro lado, as rolhas relativas ao relatório nº 100, apresenta o valor mais baixo de humidade, 4,2%, e uma média de força de extração de 20,6 daN. Tais resultados comprovam que os teores de humidade apenas afetam as propriedades elásticas e, consequentemente a força de extração, se os teores de humidade forem inferiores a 4% (50). A análise da força de extração e teor de humidade nos restantes tipos de rolhas encontram-se em anexo C.

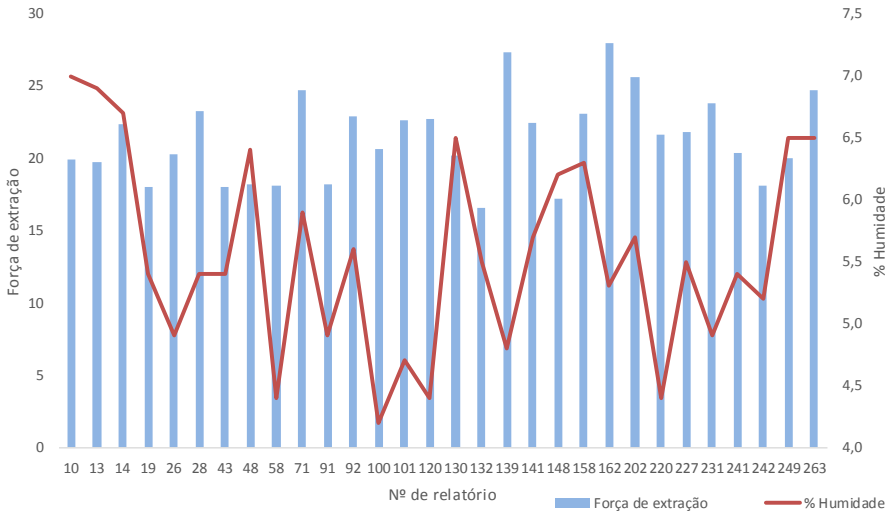


Figura 23: Força de extração (em daN) e teor de humidade (em %) em rolhas de cortiça sem revestimento.

Como referido anteriormente, o teor de humidade nas rolhas influencia as dimensões das mesmas. No entanto, ao relacionarmos a média dos valores de comprimento

das rolhas naturais sem revestimento com a média dos valores de humidade, verificamos que a humidade não altera o comprimento. Isto está comprovado na Figura 25 pela análise do relatório nº 13 que apresenta maior média de comprimento (49,4 mm) e 6,9 % de humidade e pelo relatório nº 43 que apresenta a menor média de comprimento (44,8 mm) e um teor de humidade de 5,4. O mesmo se verifica na análise dos restantes tipos de rolhas (Anexo D). Logo, o teor de humidade apenas afeta as dimensões das rolhas, se este estiver fora da gama de valores aceitáveis (4-9%).

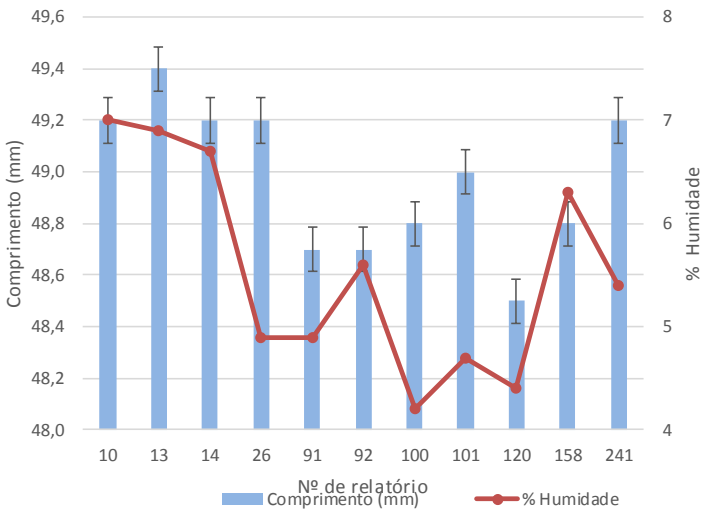


Figura 24: Comprimento (em mm) e teor de humidade (em %) em rolhas de cortiça naturais sem revestimento.

Os resultados referentes à determinação do comprimento encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13: Comprimento (em mm) de dois tipos de rolhas naturais (com e sem revestimento).

Tipos de rolha	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas naturais sem revestimento	49,0	48,5 – 49,4	0,29
Rolhas naturais com revestimento	49,0	48,8 – 49,3	0,19

Os valores mais usais nas rolhas naturais são 45,0 ± 0,7 mm e 49,0 ± 0,7 mm. Pela Tabela 13 verificamos que estes valores estão dentro do intervalo, sendo os resultados

esperados. As dimensões das rolhas são definidas pelo cliente, no entanto, o comprimento das rolhas deve ser adequado para garantir headspaces com volume adequado para permitir compensações de pressões internas geradas por alterações térmicas durante o armazenamento e o transporte (6).

Os resultados referentes à determinação do diâmetro das rolhas encontram-se na Tabela 14.

Tabela 14: Diâmetro (em mm) de dois tipos de rolhas naturais (com e sem revestimento).

Tipos de rolha	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas naturais sem revestimento	24,0	23,9 – 24,2	0,10
Rolhas naturais com revestimento	24,0	23,8 – 24,2	0,10

O valor mais comum para o diâmetro das rolhas naturais é 24 ± 0,5 mm e de acordo com a Tabela 14, os resultados obtidos encontram-se dentro deste intervalo. Logo, são os resultados previstos. Para um bom comportamento de vedação, o diâmetro das rolhas deve ajustar-se ao diâmetro do gargalo da garrafa a usar. Ao inserir a rolha no gargalo da garrafa, se se aplicar uma compressão superior a 33% do diâmetro da rolha, pois altera a sua estrutura celular e consequentemente, afeta as propriedades de elasticidade e vedação. No entanto, a dimensão das rolhas também depende do tempo de estágio, assim como do tipo de bebida a que se destinam (5,6). Isto é, para vinho com estágio prolongado, devem ser usadas rolhas de maior comprimento e diâmetro, a fim de prevenir fugas do vinho. Para bebidas com um headspace com elevada pressão, como por exemplo champanhe, devem ser usadas rolhas diâmetro superior, de modo a suportar as elevadas pressões existentes na garrafa.

Os resultados relativos à ovalização encontram-se na Tabela 15.

Tabela 15: Ovalização (em mm) de dois tipos de rolhas naturais (com e sem revestimento).

Tipos de rolha	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas naturais sem revestimento	0,1	0,1 – 0,2	0,04
Rolhas naturais com revestimento	0,2	0,1 – 0,3	0,06

Os valores aceitáveis para a ovalização das rolhas naturais são inferiores a 0,7 mm, o que na Tabela 15, pelos resultados obtidos comprova-se.

Quanto à determinação da massa volúmica, os resultados obtidos encontram-se na Tabela 16.

Tabela 16: Massa volúmica (em Kg/m^3) de dois tipos de rolhas naturais (com e sem revestimento).

Tipos de rolha	Média	Gama	Desvio padrão
Rolhas naturais sem revestimento	177,2	165,5 – 194,9	9,2
Rolhas naturais com revestimento	179,0	165,6 – 195,3	8,8

Os valores permitidos para a massa volúmica para as rolhas naturais com revestimento é 120 – 270 Kg/m^3 e para as rolhas sem revestimento é 120 – 220 Kg/m^3. Ao analisarmos a Tabela 16, verificamos que os valores obtidos estão dentro do intervalo, sendo estes resultados os esperados. Perante rolhas do mesmo tipo, as massas volúmicas podem variar, devido às características estruturais, nomeadamente ao tamanho das células, espessura e ondulações da parede celular e à porosidade resultante do canais lenticulares (11). A massa volúmica influencia as propriedades de compressão nas três direções das rolhas de cortiça: radial, axial e tangencial (75). Os intervalos de aceitação dependem do processo de produção das rolhas de cortiça, ou seja, para as rolhas naturais sem revestimento, o intervalo é menor do que o das rolhas naturais com revestimento, uma vez que estas últimas contém um revestimento, aumentando a densidade.

O teor de humidade pode ser influenciado pelo teor de peróxidos de hidrogénio, sendo essencial medir primeiro o teor de peróxidos e posteriormente a humidade. Dos lotes avaliados de rolhas de cortiça natural sem revestimento, 16% apresentavam um teor de peróxidos superior ao limite de aceitação (0,2 mg/rolha). Enquanto 21% dos lotes de rolhas naturais com revestimento, tinham quantidades de peróxidos superiores a 0,2 mg/rolha.

Os resultados obtidos na quantificação de haloanisóis encontram-se em Anexo E. Dos lotes analisados, 5% dos lotes de rolhas naturais apresentaram uma concentração de TCA superior a 2 ng/L (limite de aceitação), tendo sido imediatamente devolvido pela PrecisionElite. Pelo contrário, dos lotes analisados de rolhas colmatadas, nenhum continha concentrações de TCA acima do limite de aceitação.

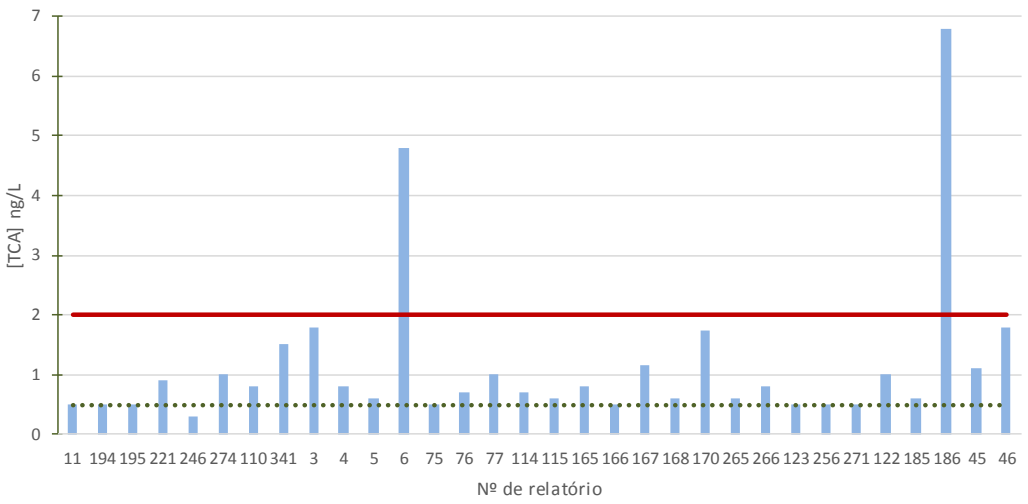


Figura 25: Concentração de TCA (em ng/L) de lotes de rolhas naturais. … <Limite de quantificação (0,5 ng/L). A linha vermelha indica a concentração máxima aceite pela PrecisionElite.

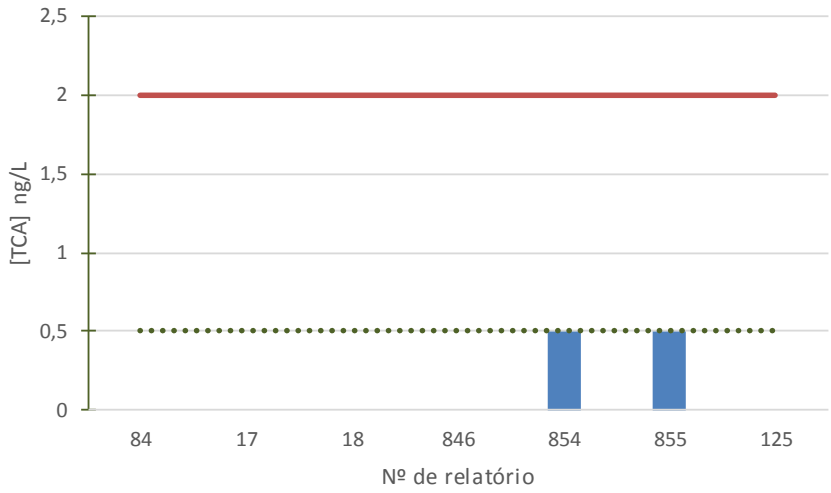


Figura 26: Concentração de TCA (em ng/L) de lotes de rolhas colmatadas. ... <Limite de quantificação (0,5 ng/L). A linha vermelha indica a concentração máxima aceite pela PrecisionElite.

Para a quantificação de haloanisóis e para a análise sensorial, a maceração deve ser realizada com as rolhas totalmente imersas nas soluções, a fim de promover a migração do TCA da rolha de cortiça para a água destilada e para o vinho por aumento da área de contacto. Porém, a quantificação da concentração de haloanisóis no macerado não corresponde à concentração total presente na rolha (7). Apesar de o macerado ser realizado

em solução hidroalcoólica, pois possibilita uma maior extração de haloanisóis, a percentagem de TCA libertada para o macerado é relativamente baixa. No entanto, não se deve alongar o tempo de imersão uma vez que, ao longo do tempo vai-se verificando readsorção e desenvolvimento microbiano, alterando a concentração de haloanisóis na solução (7,76).

5.2 Parâmetros sensoriais

Os resultados obtidos inerentes à análise sensorial das rolhas de cortiça naturais e colmatadas encontram-se em Anexo F. De acordo com os dados, 50% dos lotes analisados estavam contaminados com compostos voláteis que poderiam causar defeitos de aroma no vinho, sendo que 75% apresentavam ≤ 2% de rolhas contaminadas, 15% apresentavam entre 2 e 4% de rolhas contaminadas e 10% com ≥ 4%. Tendo, estas últimas, sido rejeitadas pela PrecisionElite. Quanto às rolhas colmatadas, dos 29% de lotes analisados, 50% apresentavam ≤ 2% de rolhas contaminadas e 50% apresentavam entre 2 e 4% de rolhas contaminadas. Pela percentagem de rolhas contaminadas por lote, verifica-se que as rolhas naturais têm maior percentagem de rolhas contaminadas com ≤ 2% de rolhas contaminadas (75%). Por outro lado, as rolhas colmatadas apresentam maior percentagem de 2 - 4% de rolhas contaminadas quando comparadas com as rolhas naturais (50%). De salientar que a análise de lotes de rolhas naturais foi muito superior aos lotes de rolhas colmatadas. De acordo com a Figura 28, verifica-se que, em 54% dos lotes de rolhas naturais e em 71% dos lotes de rolhas colmatadas contaminados apenas estão presentes compostos voláteis com descritor de aromas pertencente ao grupo dos bolores (aroma a mofo) e em 3% dos lotes de rolhas naturais contaminados está presente o composto volátil com descritores de aroma a TCA.

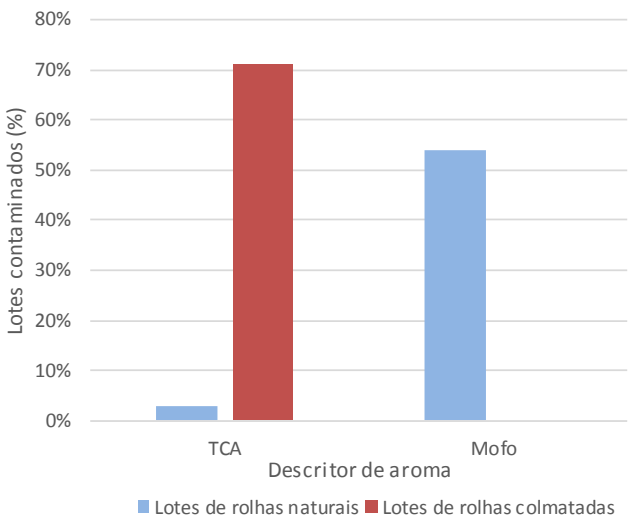


Figura 27: Percentagem de lotes contaminados e descritores de aroma dos lotes de rolhas naturais e colmatadas.

O TCA é descrito como sendo o maior responsável pelas alterações no aroma dos vinhos provocados pela cortiça, não só pelo seu baixo limite de perceção sensorial, como também pela sua fácil síntese, no entanto, os seus precursores também são compostos voláteis que apresentam odor a mofo. Posto isto, o aroma a TCA e os aromas pertencentes ao grupo bolor da roda de aromas são os mais comuns (27,77,78). Foi realizado um estudo em que se analisou sensorialmente 2400 vinhos comerciais (ensaio realizado por um painel treinado) e detetou-se 145 vinhos (6%) com aromas fúngicos. Através da metodologia GC-MS verificou-se que 71 vinhos (49%) apresentavam valores de TCA superiores ao limite de deteção sensorial definido pelo estudo (2 ng/L), sendo que 74 vinhos (51%) estavam contaminados com outros compostos voláteis com aroma semelhante ao do TCA. Isto significa que 51% dos aromas fúngicos detetados no vinho podem ser produzidos por precursores, derivados ou compostos com descritores de aroma idênticos ao do TCA, mas não são TCA (40).

De acordo com a Figura 29, 25% dos lotes de rolhas naturais apresentaram o nível de intensidade do aroma intenso, 14% como moderado, 12% muito intenso e apenas 8% como ligeiro. Enquanto, 43% dos lotes de rolhas colmatadas apresentaram o nível de intensidade do aroma intenso, 14% apresentaram níveis de aroma moderado e ligeiro.

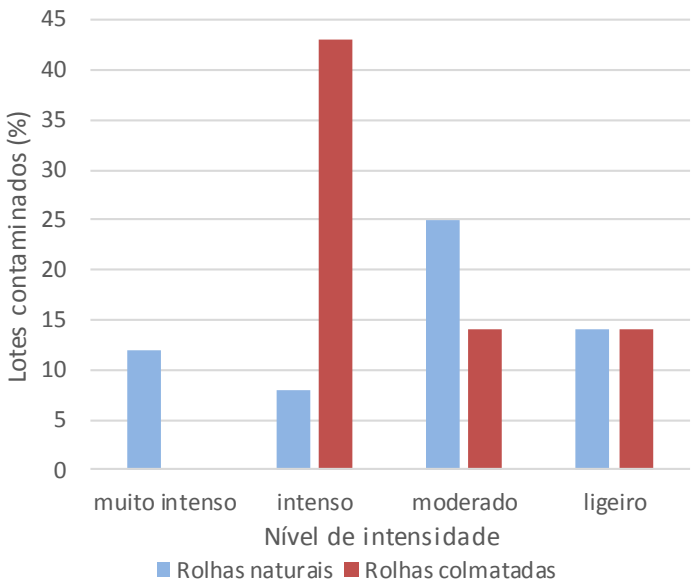


Figura 28: Percentagem de lotes contaminados e níveis de intensidade do aroma detetado na análise sensorial de rolhas naturais e colmatadas.

Pela Figura 30 verifica-se que o coeficiente de Pearson é 0,69, isto significa que há uma moderada positiva entre as variáveis, percentagem de rolhas naturais contaminadas por lote e os níveis de intensidade do aroma detetado na análise sensorial (79). Este resultado está de acordo com a literatura, visto que, quando são detetados aromas com intensidade elevada no macerado é por que há uma elevada concentração do composto responsável por esse aroma, podendo contaminar as rolhas que lhe estão próximas (80). Assim, a análise sensorial rolha-a-rolha seria mais viável, no entanto, é um método demorado, não sendo vantajoso para a indústria das rolhas de cortiça.

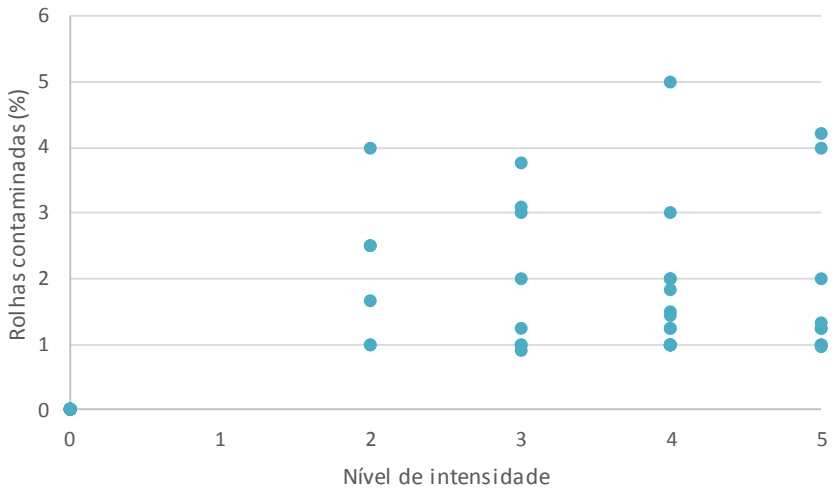


Figura 29: Percentagem de rolhas naturais contaminadas por lote e nível de intensidade do aroma detetado na análise sensorial (0- sem aroma, 1- muito ligeiro, 2- ligeiro, 3- moderado, 4- intenso, 5- muito intenso). Coeficiente de Pearson: 0,69.

Conforme os resultados obtidos da análise de lotes de rolhas naturais e colmatadas, verifica-se que os descritores de aroma presente em ambos os tipos de rolhas pertencem ao grupo bolor da roda de aromas, sendo que este descritor está presente em mais lotes de rolhas colmatadas do que naturais. Quanto aos níveis de intensidade dos aromas detetados, verifica-se que o nível intenso foi o mais elevado, sendo que, mais uma vez, este nível surgiu como o mais elevado em maior percentagem nas rolhas colmatadas. Em ambos os casos, o nível de intensidade mais elevado foi o moderado, sendo que ambos apresentam a mesma percentagem. Note-se que foram analisados 80 lotes de rolhas naturais e 7 lotes de rolhas colmatadas.

Face ao incumprimento das normas de preparação, produção e acabamento das rolhas de rolhas de cortiça nas empresas externas, mas também na PrecisionElite, é importante iniciar um plano de controlo de qualidade para definir a aceitabilidade ou inaceitabilidade dos lotes e assim evitar possíveis contaminações nos vinhos do cliente final. A partir do fluxograma é possível identificar as potenciais fontes de contaminação e os melhores métodos de controlo. A PrecisionElite identificou os perigos associados a cada fase, tendo obtido um índice de risco médio (IR = 2). No entanto, quando identifica perigos com índice superior, submete-os à Árvore de Decisão. Os resultados encontram-se na Tabela 17.

Tabela 17: Análise de perigos associado a cada fase do processo realizado na PrecisionElite.

Medidas de controlo	Etapas	Perigo identificado	Prob	Sev	IR
Controlo de receção; Avaliação de fornecedores	Receção de materiais subsidiários (caixas de cartão, paletes, sacos de plástico)	B: Pode conter material fecal de animais;	1	2	2
Controlo laboratorial		Q: Pode conter doses excessivas de halofenóis e haloanisóis nas caixas de	1	2	2
Controlo de receção; Avaliação de fornecedores; Verificação de lotes e prazos de validade;	Receção de Produtos Químicos	Q: Produto pode não estar próprio para uso alimentar; Contaminação por presença de substâncias químicas indesejáveis;	1	2	2
Controlo de receção; Avaliação de fornecedores; Controlo laboratorial;	Receção de rolhas	B : Contaminação por bolores/leveduras/bactérias;	1	2	2
Controlo laboratorial		Q: Presença de odores estranhos e cloroanisóis;	2	1	2
Controlo de receção; Controlo laboratorial (determinação do teor de peróxidos);		Q: Elevado teor de peróxidos;	1	2	2
Controlo visual; Controlo de receção; Controlo laboratorial;	Secagem das rolhas lavadas	B: Contaminação por bolores/leveduras/bactérias;	1	2	2
Controlo laboratorial		Q: Presença de haloanisóis e halofenóis atmosféricos;	2	1	2
Controlo laboratorial;		Q: Elevado teor de peróxidos;	2	1	2
Controlo laboratorial;	Armazenamento de matérias-primas	B: Contaminação por bolores/leveduras/bactérias;	1	2	2
Controlo laboratorial;	Escolha em banca, tapete e/ou eletrónica	B: Contaminação biológica resultante dos operadores e/ou bolores/leveduras/bactérias;	1	2	2

Remoção dos corpos estranhos;		F: Contaminação por corpos estranhos	2	1	2
Controlo laboratorial;	Marcação por fogo	B: Contaminação biológica resultante dos operadores e/ou bolores/leveduras/bactérias;	1	2	2
Análise de metais pesados à tinta;	Marcação por tinta	Contaminação por produtos fora do prazo ou inadequados para uso alimentar;	1	2	2
Controlo laboratorial;	Tratamento de superfície	B: Contaminação biológica resultante dos operadores e/ou bolores/leveduras/bactérias;	1	2	2
Controlo laboratorial;	Escolha em banca	B: Contaminação biológica resultante dos operadores e/ou bolores/leveduras/bactérias;	1	2	2
Cumprimento dos critérios de escolha;		F: Contaminação por corpos estranhos;	2	1	2
Verificação da moega;	Contagem	F: Presença de corpos estranhos;	2	1	2
Controlo laboratorial;		B: Contaminação biológica resultante dos operadores e/ou bolores/leveduras/bactérias;	1	2	2
Verificação da dosagem através do ensaio de determinação de peróxidos;	Embalamento	Q: Contaminação por excesso de SO_2	1	2	2

A maioria dos perigos identificados na empresa são de origem química e biológica, sendo os perigos físicos menos relevantes devido à facilidade da sua remoção. Desta forma, os perigos químicos e biológicos requerem uma maior atenção e um controlo mais rigoroso.

Todo o processo se inicia na receção de materiais, rolhas de cortiça, produtos químicos ou subsidiários. Nesta fase, caso se verifique incumprimento das boas práticas de higiene, os principais perigos identificados são a presença de doses excessivas de halofenóis e haloanisóis (nomeadamente cloroanisóis) em caixas de cartão ou nas próprias rolhas de cortiça, presença de material fecal de animais, contaminação por substâncias químicas indesejáveis ou por bolores, leveduras ou bactérias. Durante esta fase, é essencial

proceder a um controlo dos fornecedores qualificados, mas também a ensaios laboratoriais. Assim, tanto os ensaios da determinação de haloanisóis, como o ensaio sensorial olfativo, são relevantes para esta fase do processo.

As rolhas, para sua limpeza e desinfeção, são sujeitas a um processo de lavagem com peróxido de hidrogénio por uma empresa externa. Aquando da sua devolução, os ensaios de determinação de peróxidos e de haloanisóis são relevantes, assim como o controlo da humidade para evitar desenvolvimento microbiológico.

As rolhas de cortiça, quando não necessárias, podem ficar armazenadas durante muito tempo, estando sujeitas a contaminação microbiológica devido à atmosfera onde se encontram. O período máximo de armazenamento é de 6 meses, contudo existem clientes que prolongam esse tempo. A sujidade do espaço, a humidade e a luz solar podem oferecer as melhores condições para o desenvolvimento de microrganismos. Quando a empresa recebe uma encomenda de um determinado tipo de rolha (calibre, tipo e qualidade), ou após marcação e tratamento, estas são escolhidas, por pessoas especializadas, de acordo com a qualidade pretendida pelo cliente. Os operadores, nesta fase, estão em direto contacto com as rolhas, sendo uma fase mais vulnerável à contaminação microbiológica ou à presença de pó de cortiça. Para controlo, os ensaios de determinação de resíduos sólidos e o cumprimento do plano de limpeza e manutenção são efetuados.

Na etapa final, são vários os ensaios realizados de modo a garantir que o tratamento foi bem feito e assim evitar futuras reclamações. Os ensaios mais relevantes para controlo de qualidade são os ensaios da força de extração, da capilaridade, do teor de peróxidos, os dimensionais, humidade, assim como os ensaios sensoriais. No entanto, existem clientes que possuem caderno de encargos, onde constam dados específicos para cada característica, e o ensaio de vedação/estanquicidade do líquido é um dos ensaios pedidos. Antes de proceder ao embalamento e posterior expedição do produto final, deve ser conhecido o teor de peróxidos, uma vez que estes podem oxidar o vinho, assim como o teor de anidrido sulfuroso, que é o meio utilizado para armazenar as rolhas, devem ser controlados.

6. Conclusão

Dada a importância da segurança alimentar nos dias de hoje, é explorada a implementação de um sistema que garanta o controlo de qualidade. O mesmo se aplica na indústria corticeira, onde o HACCP surge como um sistema eficaz.

Durante o período de estágio foram avaliados os parâmetros físico-químicos e sensoriais de rolhas de cortiça usadas como matéria-prima e produto final, após marcação e tratamento de modo, sendo estas naturais (com e sem revestimento), colmatadas, aglomeradas/microaglomeradas e técnicas (1+1). Os parâmetros avaliados foram: capilaridade, força de extração, humidade, dimensões (comprimento e diâmetro), ovalização, massa volúmica, peróxidos, resíduos sólidos, haloanisóis e sensoriais olfativos. Todos os ensaios contribuem para o controlo de qualidade a fim de oferecer o melhor serviço aos seus clientes, tendo-se verificado, ao longo da avaliação, que todos os lotes analisados estavam dentro dos limites de aceitação. De acordo com o ensaios físico-químicos realizados, verificamos que alguns parâmetros estão correlacionados, sendo importante controlar todos eles. Quanto à análise sensorial, dos lotes de rolhas analisados, 50% dos lotes de rolhas naturais e 29% dos lotes de rolhas colmatadas apresentaram contaminação sensorial, ainda assim estes podem estar conformes, pois existe um critério de aceitação de 2% de rolhas contaminadas, sendo que o lote apenas é rejeitado se ultrapassar este valor. Esta contaminação é causada por compostos voláteis com descritores de aroma pertencentes ao grupo bolor e TCA, sendo este um grande problema para a indústria das rolhas e dos vinhos. Em relação às intensidades dos aromas detetados nos lotes contaminados, verificou-se que os lotes de rolhas naturais colmatadas apresentam níveis de intensidade de aromas mais elevados que os lotes de rolhas naturais (intenso – 43%). Numa última fase, foram identificados os perigos associados ao processo de produção de rolhas e estabelecidos os pré-requisitos que permitam controlar, a nível laboratorial, os perigos associados às diferentes fases de produção. A metodologia implementada teve como base os princípios HACCP, nomeadamente a construção de um fluxograma, a análise de perigos e a determinação de pontos críticos de controlo.

7. Referências

1. PrecisionElite. Manual do Sistema de Gestão Qualidade [Internet]. 2005. p. 1–11. Available from: file:///C:/Users/vanessa costa/Downloads/Manual da Qualidade.pdf
2. APCOR. APCOR. Cork Information Bureau 2015. 2015;1–14.
3. APCOR. Cortiça em números. Cork Inf Bur 2016. 2016;1–15.
4. Fórum Projeto. A Utilização e a Valorização da Propriedade Industrial no Sector da Cortiça. In: INPI. 2005. p. 116.
5. APCOR. Kit técnico sobre rolhas de cortiça. Amorim. 2014;65.
6. APCOR. Manual técnico das rolhas. 2015;56. Available from: http://www.apcor.pt/wp-content/uploads/2016/01/ManualRolhas_PT_VF.pdf
7. Hervé, E.; Price, S.; Burns, G.; Weber P. Chemical Analysis of TCA as a Quality Control Tool For Natural Corks. 2006. 16 p.
8. Coque, J.R.; Pérez, E.P.; Goswami M. et al. Wine Contamination by Haloanisoles: Towards the development of biotechnological strategies to remove chloroanisoles from cork stoppers. Inbiotec, editor. Portugal; 2006. 1-59 p.
9. Gil L. A cortiça como material de construção - Manual Técnico. In: APCOR. 2007. p. 66. Available from: http://www.apcor.pt/userfiles/File/Caderno Tecnico F PT.pdf
10. Sierra-Pérez, J.; Boschmonart-Rives, J.; Gabarrell X. Production and trade analysis in the Iberian cork sector: Economic characterization of a forest industry. Resour Conserv Recycl. 2015;98:55–66.
11. Silva, S.P.; Sabino, M.A.; Fernandes, E.M.; Correlo, V.M.; Boesel, L.F.; Reis RL. Cork: properties, capabilities and applications. Int Mater Rev [Internet]. 2005;50(6):345–65. Available from: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/174328005X41168
12. Silva Pereira, C.; Danesh, P.; Marques, J.J.F.; San Romão MV. O gosto a rolha em vinhos - Estado actual dos conhecimentos. Ciência Téc Vitiv. 1999;14(2):79–99.
13. Pereira, H.; Tomé M. Cork Oak. Elsevier. 2004;613–20.
14. Pereira H. Variability of the chemical composition of cork. BioResources. 2013;8(2):2246–56.
15. Vasconcelos BC. Migração de 2,4,6-TCA através de rolhas neutrocork para um vinho e implementação do método de análise para MDMP. Universidade Católica Portuguesa- Porto; 2012.
16. Seixas de Melo, J.S; Moreno, M.J; Burrows, H.D; Gil MH. Suberinas e Cutinas: Biopoliésteres das Plantas. In: Química dos Polímeros. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra; 2004. p. 625–8.
17. Pereira H. Chemical composition and variability of cork from Quercus suber L. Wood Sci Technol. 1988;22(3):211–8.
18. Demertzi, M.; Dias, A.C.; Matos, A.; Arroja LM. Evaluation of different end-of-life management alternatives for used natural cork stoppers through life cycle assessment. Waste Manag. 2015;46:668–80.

19. Abe, L.T; Mota, R.V; Lajolo, F.M; Genovese M. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas Vitis labrusca L. e Vitis vinifera L. Ciência e Tecnol Aliment [Internet]. 2007;27(2):394–400. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000200032&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt
20. Pereira, J.S.; Bugalho, M.N.; Caldeira MC. Do sobreiro à cortiça: Um sistema sustentável. :1–44. Available from: http://www.amorim.com/xms/files/CorticeiraAmorim/Noticias/Do_Sobreiro_a_cortica_um_sistema_sustentavel.pdf
21. CIPR. Código Internacional das Práticas Rolheiras – Versão 6.06. Confédération Eur du Liège [Internet]. 2014;1–87. Available from: http://www.apcor.pt/wp-content/uploads/2016/05/CIPR_PT_2016.pdf
22. Pereira, H.; Rosa, M.E.; Fortes MA. The Cellular Structure of Cork from Quercus Suber L. IAWA J [Internet]. 1987;8(3):213–8. Available from: http://booksandjournals.brillonline.com/content/journals/10.1163/22941932-90001048
23. APCOR. Rolhas de cortiça. Cork Inf Bur 2015. 2015;8.
24. Solvay. INTEROX ® ST-50. 2009.
25. Brandão, P.F.; Ramos, R.M.; Almeida, P.J.; Rodrigues JA. Determination of Carbonyl Compounds in Cork Agglomerates by GDME-HPLC-UV: Identification of the Extracted Compounds by HPLC-MS/MS. J Agric Food Chem. 2017;65(5):1037–42.
26. Ezquerro, O.; Garrido-López A., Tena MT. Determination of 2,4,6-trichloroanisole and guaiacol in cork stoppers by pressurised fluid extraction and gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr A. 2006;1102:18–24.
27. Silva Pereira, C.; Danesh, P.; Figueiredo Marques, J.J.; San Romão MV. O gosto a rolha em vinhos - Estado atual dos conhecimentos. Ciência Téc Vitiv [Internet]. 1999;14(2):79–99. Available from: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0254-02231999000200005&lng=es&nrm=.pf&tlng=en
28. Cacho, J. I.; Nicolás, J.; Vinas, P.; Campillo, N.; Hernández-Córdoba M. Direct sample introduction-gas chromatography-mass spectrometry for the determination of haloanisole compounds in cork stoppers. J Chromatogr A. 2016;1475:74–9.
29. Oliveira, Vanda; Lopes P, Cabral, Miguel; Pereira H. Influence of cork defects in the oxygen ingress through wine stoppers: Insights with X-ray tomography. J Food Eng. 2015;165:66–73.
30. Darriet, P.; Pons, M.; Lamy, S.; Dubourdieu D. Identification and quantification of geosmin, an earthy odorant contaminating wines. J Agric Food Chem. 2000;48(10):4835–8.
31. Juanola, R.; Subirà, D.; Salvadó, V.; Garcia Regueiro JA. Evaluation of an extraction method in the determination of the 2,4,6-trichloroanisole content of tainted cork. J Chromatogr A. 2002;953:207–14.
32. 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 [Internet]. 2009;115(1):71–

7. Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/j.2050-0416.2009.tb00346.x

33. Prescott, J.; Norris, L.; Kunst, M.; Kim S. Estimating a “consumer rejection threshold” for cork taint in white wine. Food Qual Prefer. 2005;16(4):345–9.

34. Weingart, G.; Schwartz, H.; Eder, R.; Sontag G. Determination of geosmin and 2,4,6-trichloroanisole in white and red Austrian wines by headspace SPME-GC/MS and comparison with sensory analysis. Eur Food Res Technol. 2010;231(5):771–9.

35. Gerber, N.N; Lechevalier HA. Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from actinomycetes. Appl Microbiol. 1965;13(6):935–8.

36. Subervin. Análise Sensorial - Rolhas de Cortiça. CTCOR. 2015;1–39.

37. Ezquerro, O.;Tena MT. Determination of odour-causing volatile organic compounds in cork stoppers by multiple headspace solid-phase microextraction. J Chromatogr A. 2005;1068(2):201–8.

38. Chatonnet, P.; Fleury, A.; Boutou S. Origin and incidence of 2-methoxy-3,5-dimethylpyrazine, a compound with a “fungal” and “corky” aroma found in cork stoppers and oak chips in contact with wines. J Agric Food Chem. 2010;58(23):12481–90.

39. Chattonet P. Anisoles y Brettanomyces- Causas, efectos y mecanismos de control [Internet]. Fundación para la Cultura del Vino. 2004. 1-111 p. Available from: http://culturadelvino.org/fcv/wp-content/uploads/pdf/encuentros/encuentro_2004.pdf

40. Soleas, G.J.; Yan J., Seaver, T.; Goldberg DM. Method for the gas chromatographic assay with mass selective detection of trichloro compounds in corks and wines applied to elucidate the potential cause of cork taint. J Agric Food Chem. 2002;50(5):1032–9.

41. Feltrer, R.; Álvarez-Rodríguez, M.L.; Barreiro, C.; Godio, R.P.; Coque JJR. Characterization of a novel 2,4,6-trichlorophenol-inducible gene encoding chlorophenol O-methyltransferase from Trichoderma longibrachiatum responsible for the formation of chloroanisoles and detoxification of chlorophenols. Fungal Genet Biol [Internet]. 2010;47(5):458–67. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2010.02.002

42. Prak, Sina; Gunata, Ziya; Guiraud, Joseph-Pierre; Schorr-Galindo S. Fungal strains isolated from cork stoppers and the formation of 2,4,6-trichloroanisole involved in the cork taint of wine. Food Microbiol. 2007;24:271–80.

43. Álvarez-Rodríguez, M.L.; López-Ocana, L.; López-Coronado, J.M.; Rodríguez, E.; Martínez, M.J.; Larriba, G.; Coque JJ. Cork Taint of Wines: Role of the Filamentous Fungi Isolated from Cork in the Formation of 2,4,6-Trichloroanisole by O- Methylation 2,4,6-Trichlorophenol. Appl Environ Microbiol. 2002;68(12):5860–9.

44. Rocha, S.M.; Coimbra, M.A.; Delgadillo I. Demonstration of pectic polysaccharides in cork cell wall from Quercus suber L. J Agric Food Chem. 2000;48(6):2003–7.

45. APOR. Combate ao TCA [Internet]. 2015. Available from: https://www.apcor.pt/combate-ao-tca-tricloroanisole/

46. SENAC - Departamento Nacional. Guia de Elaboração do Plano APPCC. Mesa PAS; 2002. p. 305.

47. WHO;, FAO; FAO/WHO guidance to governments on the application of HACCP in small and/or less-developed food businesses. Vol. 86. 2006.

48. Fonseca, A.L.; Brazinha, C.; Pereira, H.; Crespo, J.G.; Teodoro OMND. Permeability of cork for water and ethanol. J Agric Food Chem. 2013;61(40):9672–9.
49. Semaan FS. Conductive composite as versatile substrates for modeling of interfaces and sensors. In: Wythers MC., editor. Advances in Materials Science Research. New York: Nova Science publishers; 2016. p. 1–24.
50. Jackson RS. Wine science : principles and applications [Internet]. [cited 2017 Oct 10]. 960 p. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123814685
51. Rosa, M.E.; Fortes MA. Water Absorption by Cork. Wood fiber Sci. 1993;25(4):339–48.
52. Ribéreau-Gayon, P.; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu D. Handbook of Enology - Volume 2 - The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. John Wiley & Sons, Ltd; 2006. 442 p.
53. Gellerstedt, G.; Pettersson I. Chemical Aspects of Hydrogen Peroxide Bleaching. Part II the Bleaching of Kraft Pulps. J Wood Chem Technol. 1982;2(3):231–50.
54. Chemical G. EM Quant® Peroxide Test, Catalog No. 10011 [Internet]. [cited 2017 Nov 1]. Available from: http://store.galladechem.com/peroxide-test-strips-05-25-ppm-em-quant--1-pk-of-100-10011-1-emd-p13076.aspx
55. Jackson RS. Wine science : principles and applications. 960 p.
56. Zalacain, A.; Alonso, G.L.; Lorenzo, C.; Iñiguez, M.; Salinas MR. Stir bar sorptive extraction for the analysis of wine cork taint. J Chromatogr A. 2004;1033(1):173–8.
57. Gómez-Ariza, J.L.; García Barrera, T.; Lorenzo, F.; Beltrán R. Use of multiple headspace solid-phase microextraction and pervaporation for the determination of off-flavours in wine. J Chromatogr A. 2006;1112(1–2):133–40.
58. González-Adrados, J.R.; González-Hernández, F.; Garcia de Ceca, J.L.; Cáceres-Esteban, M.J.; García-Vallejo MC. Wine absorption by cork stoppers. Spanish J Agric Res. 2008;6(4):645–9.
59. Barker, D.A.; Capone, D.L.; Pollnitz, A.P.; McLean, H.J.; Francis, I.L.; Oakey, H.; Sefton MA. Absorption of 2,4,6-trichloroanisole by wine corks via the vapour phase in an enclosed environment. Aust J Grape Wine Res. 2001;7(1):40–6.
60. Peña-Neira, A.; Fernández de Simón, B.; García-Vallejo, M.C.; Hernández, T.; Cadahía, E.; Suarez JA. Presence of cork-taint responsible compounds in wines and their cork stoppers. Eur Food Res Technol [Internet]. 2000;211(4):257–61. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s002170000193
61. Rocha, S.; Delgadillo, I.; Ferrer Correia AJ. GC−MS Study of Volatiles of Normal and Microbiologically Attacked Cork from Quercus suber L. J Agric Food Chem. 1996;44(3):865–71.
62. Liu, D.; Xing, R.R.; Li, Z.; Yang, D.M.; Pan QH. Evolution of volatile compounds, aroma attributes, and sensory perception in bottle-aged red wines and their correlation. Eur Food Res Technol. 2016;242:1937–48.
63. Azevedo, L.; Reis, M.; Silva, L.; Andrade J. Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos. Quim Nova. 2007;30(8):1968–75.
64. Marques, A.V.; Pereira H. Lignin monomeric composition of corks from the barks of Betula pendula, Quercus suber and Quercus cerris determined by Py-GC-MS/FID. J Anal Appl Pyrolysis [Internet].

2013;100:88–94. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2012.12.001

65. Rocha, Sí.M.; Coimbra, M.A.; Delgadillo I. Occurrence of furfuraldehydes during the processing of Quercus suber L. cork. Simultaneous determination of furfural, 5-hydroxymethylfurfural and 5-methylfurfural and their relation with cork polysaccharides. Carbohydr Polym. 2004;56(3):287–93.
66. Ribéreau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. Handbook of Enology - Volume 2 - The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. 2nd, editor. John Wiley & Sons, Ltd; 2006. p. 442.
67. CTCOR. Análise sensorial:Rolhas de cortiça. 2015;
68. Herve E, Price S, Burns G, Weber P. Chemical Analysis of TCA As a Quality Control Tool For Natural Corks. 2006;16.
69. Vaz, A.; Moreira, R.; Hogg T. Introdução ao HACCP. First. AESBUC - Associação para a Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica; 2000. 53 p.
70. Parlamento Europeu. Regulamento (CE) nº 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004: relativo à higiene dos géneros alimentícios. J Of da União Eur. 2004;226/3-226/21.
71. Parlamento Europeu. Regulamento (CE) Nº 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004: que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. J Of da União Eur. 2004;1–51.
72. Baptista, Paulo; Noronha, João; Oliveira, João; Saraiva J. Modelos Genéricos de HACCP. Forvisão-Consultoria em formação integrada L, editor. Forvisão-consultoria em formação Integrada,S:A. 2003. 88 p.
73. Bentley J, Turner G. Introduction to paint chemisty and principles of paint technology. 4th ed. London : Chapman & Hall, 1997.; 1997. 304 p.
74. Fonseca, A.L.; Brazinha, C.; Pereira, H.; Crespo, J.G.; Teodoro O. Permeability of cork for water and ethanol. J Agric Food Chem. 2013;61:9672–9.
75. Anjos, Ofélia; Rodrigues, Cátia; Morais, José; Pereira H. Effect of density on the compression behaviour of cork. Mater Des. 2014;53:1089–96.
76. Chatonnet P, Labadie D, Boutou S. Study of chloroanisoles assay and TCA assay validation in wine and cork stoppers soaked in dilute alcohol solution using SIDA-HSSPME-GC-MS/EI-SIM. J Int des Sci la Vigne du Vin. 2005;39(3):137–47.
77. Capone DL, Skouroumounis GK, Sefton MA. Permeation of 2,4,6-trichloroanisole through cork closures in wine bottles. Aust J Grape Wine Res. 2002;8(3):196–9.
78. Pereira C, Gil L. O Problema do Odor a Mofo nas Rolhas de Cortiça e Processos para a sua Redução/Eliminação. Silva Lusit. 2006;14(1):101–11.
79. Figueiredo Filho, D; Júnior J. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). Política Hoje [Internet]. 2009;18(1):115–46. Available from: http://www.revistas.usp.br/leviathan/article/view/132346
80. Coque, J.J.R.; Pérez, E.R.; Goswami, M.; Martínez, R.F.; García, S.C.; Rodríguez, M.L.A.; Martín JFM. Wine Contamination by Haloanisoles: Towards the development of biotechnological strategies to remove chloroanisoles from cork stoppers. Inbiotec. 2006;1–12.

8. Anexos

Anexo A: Tabela de amostragens

	Dimensão da amostragem								
Dimensão do lote	**Comprimento**	**Diâmetro**	**Massa volúmica**	**Humidade**	**Capilaridade**	**Força de extração**	**Resíduos sólidos**	**Estanqui-cidade**	**Água fervente**
≤ 1200	20	20	20	20	6	6	1 x 4	6	10
≤ 3200	32	32	32	32	6	8	1 x 4	6	10
≤ 10000	32	32	32	32	6	10	1 x 4	8	10
≤ 35000	50	50	50	50	6	10	1 x 4	10	20
≤ 50000	50	50	50	50	8	15	1 x 4	10	25
≤ 100000	80	80	80	80	8	20	1 x 4	10	30
≤ 150000	150	150	150	150	8	20	2 x 4	10	30
≤ 200000	180	180	180	180	8	25	2 x 4	10	50
≤ 250000	200	200	200	200	10	25	2 x 4	12	50

Anexo B: Ficha de prova da análise sensorial

Fornecedor/Cliente _____ Nº de relatório _____ Nº de guia/Lote _____

Data ___/___/___ Hora de inicio_____ Hora de fim_____

Assinalar com um "x" o calibre, tipo/qualidade e classe do lote analisado.

Calibre (mm) 38x24 ____ 45x24 ____ 49x24 ____ 54x24 ____ Outro _____

Tipo/ Qualidade Natural ____ Natural colmatada ____

Classe Flor ____ Extra ____ Superior____ 1ª____ 2ª____ 3ª____ 4ª____

Nº total de frascos: _____ Nº de rolhas por frasco: _____

Método (matriz utilizada): _____

Percentagem de rolhas contaminadas no lote _____

Prova sensorial

Provador 1: _____

Nº de frasco	Nº de rolhas	Descritor de aroma detetado	Nível de intensidade

Notas:

Provador 2: _____

Nº de frasco	Nº de rolhas	Descritor de aroma detetado	Nível de intensidade

Notas:

Anexo C: Força de extração e o teor de humidade nas rolhas de cortiça

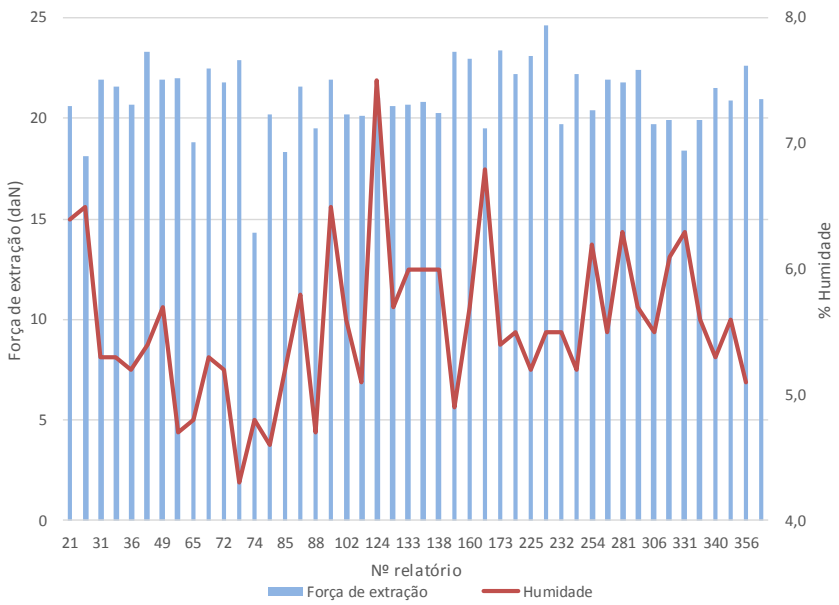


Figura A.1: Força de extração (em daN) e teor de humidade (em %) em rolhas naturais colmatadas.

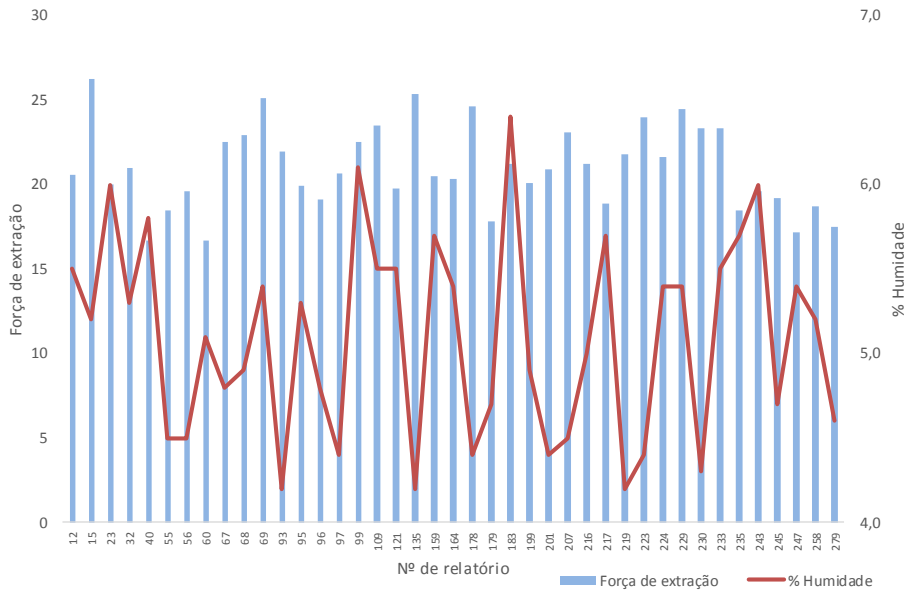


Figura A.2: Força de extração (em daN) e teor de humidade (em %) em rolhas naturais com revestimento.

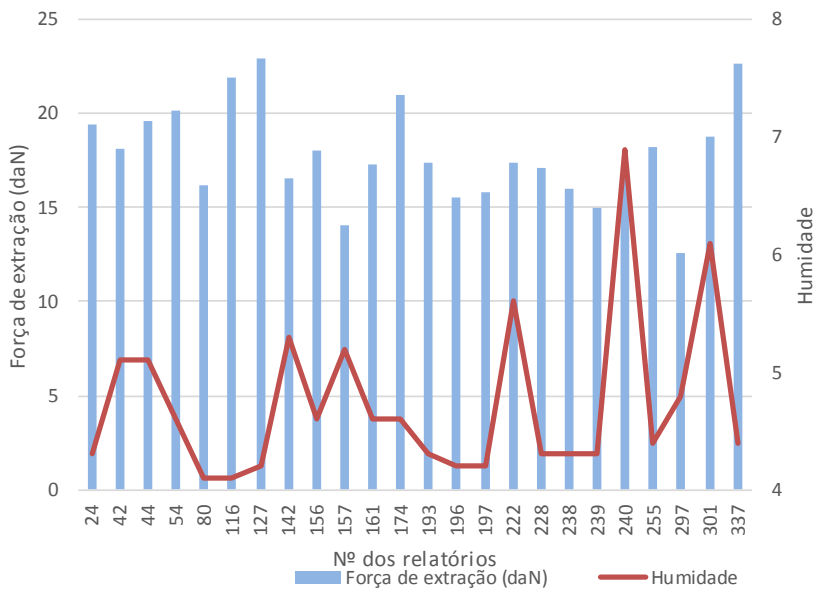


Figura A.3: Força de extração (em daN) e teor de humidade (em %) em rolhas aglomeradas/microaglomeradas.

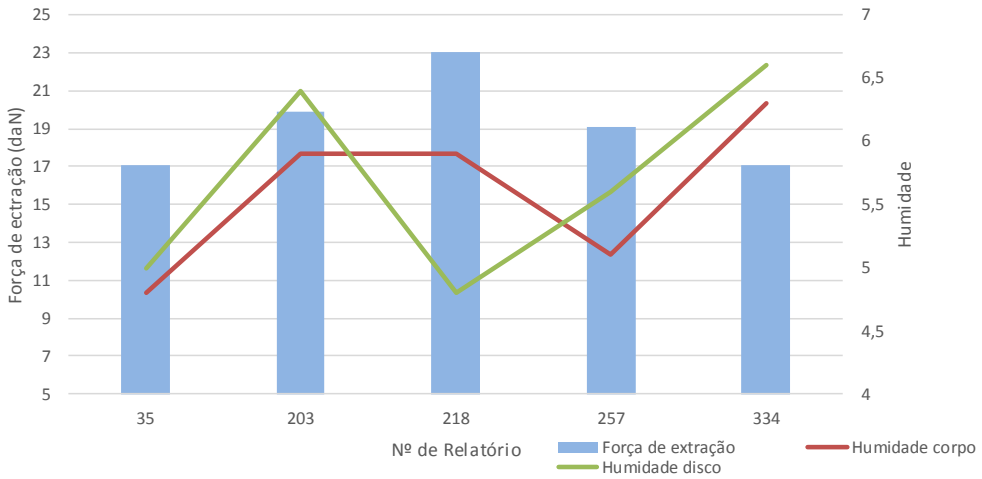
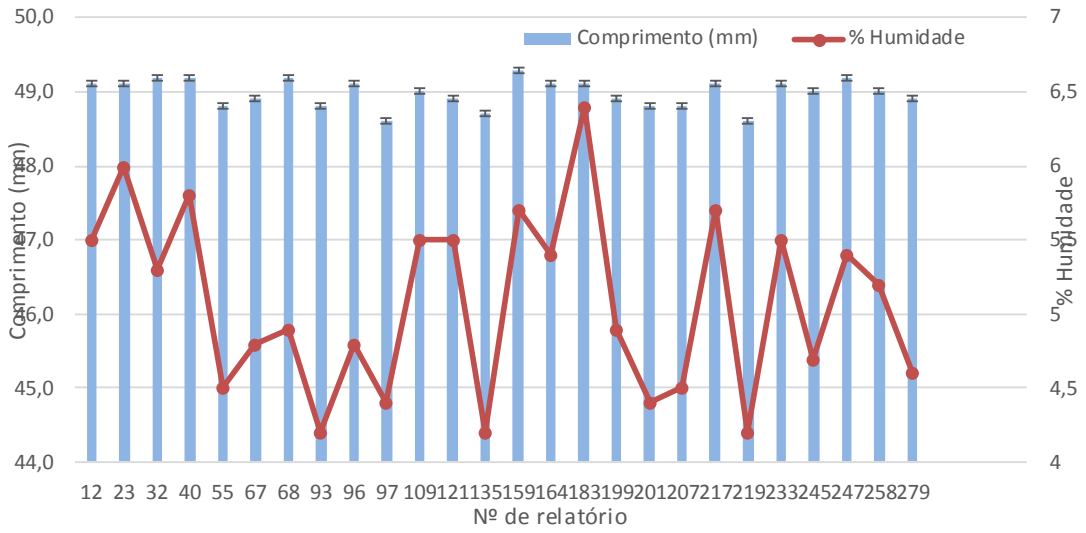


Figura A.4: Força de extração (em daN) e teor de humidade (em %) em rolhas técnicas (1+1).

Anexo D: Comprimento e a humidade em rolhas de cortiça



A.5: Comprimento (em mm) e teor de humidade (em %) de rolhas naturais com revestimento.

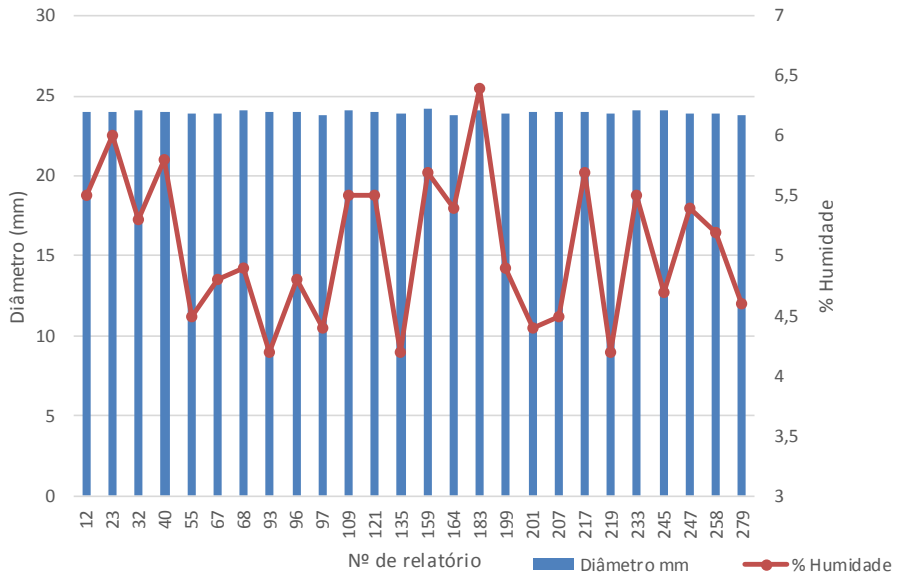


Figura A.6: Diâmetro (em mm) e teor de humidade (em %) de rolhas naturais com revestimento.

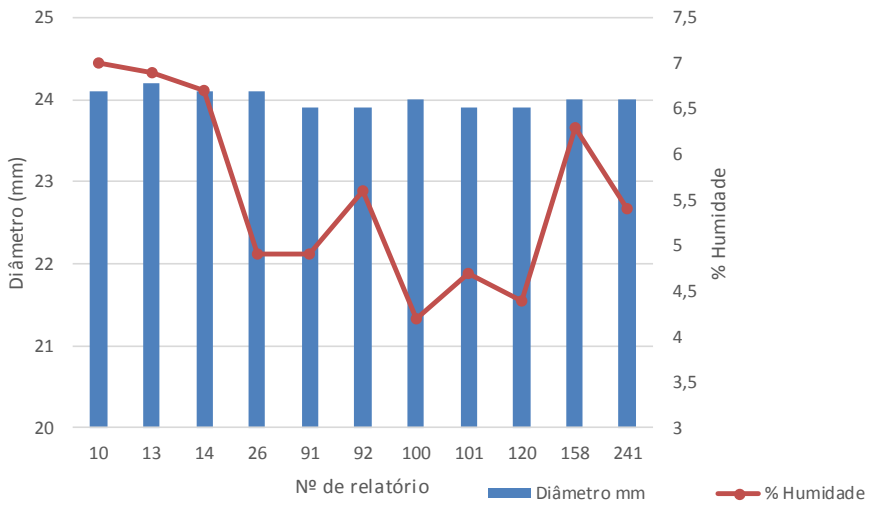


Figura A.7: Diâmetro (em mm) e teor de humidade (em %) de rolhas naturais sem revestimento.

Anexo E: Análise sensorial e Quantificação de haloanisóis nas rolhas de cortiça Naturais

Tabela A.1: Análise sensorial: aroma, intensidade e percentagem de rolhas contaminadas e quantificação de haloanisóis em rolhas naturais.

	Análise sensorial			Quantificação de haloanisóis
Nº de relatório de receção	Aroma	Intensidade	% de rolhas contaminadas	[TCA] ng/L
0	-	-	0	< LQ
79	-	-	0	-
90	Mofo	Intenso	1	-
103	Mofo	Intenso	1,5	-
	Mofo	Moderado		
146	TCA	Moderado	3	-
	Mofo	Moderado		
137	-	-	0	-
194	-	-	0	< LQ
195	-	-	0	< LQ
221	Mofo	Muito intenso	1,0	0,9
264	Mofo	Muito intenso	4,2	-
	Mofo	Intenso		
245	-	-	0	-
246	-	-	0	0,3
272	-	-	0	-
275	-	-	0	-
289	-	-	0	-
290	-	-	0	-
274	Mofo	Intenso	1,8	1
353	Mofo	Ligeiro	1,0	-
352	Mofo	Moderado	1,0	-
312	-	-	0	-
313	Mofo	Intenso	1	-
324	-	-	0	-
20	TCA	Moderado	3,8	-
	Mofo	Intenso		
	Mofo	Muito intenso		
846	Mofo	Moderado	3,1	-
	Mofo	Intenso		
	Mofo	Ligeiro		
	Mofo	Intenso		
9	-	-	0	-

110	Mofo	Intenso	1,4	0,8
111	Mofo	Moderado	0,9	-
112	-	-	0	-
180	-	-	0	-
181	-	-	0	-
211	Mofo	Intenso	3	-
	Mofo	Intenso		
	Mofo	Ligeio		
209	-	-	0	-
210	Mofo	Intenso	5	-
341	Mofo	Intenso	2	1,5
	Mofo	Moderado		
342	-	-	0	-
3	-	-	0	1,8
7	TCA	Ligeiro	2,5	-
8	Mofo	Moderado	1,3	-
	Mofo	Muito intenso	1,3	
4	Mofo	Intenso	1	0,8
5	Mofo	Intenso	1,3	0,6
6	-	-	0	4,8
75	Mofo	Ligeiro	2,5	< LQ
76	-	-	0	0,7
77	Mofo	Muito intenso	1,3	1
114	-	-	0	0,7
115	-	-	0	0,6
165	-	-	0	0,8
166	-	-	0	< LQ
167	Mofo	Ligeiro	1	1,15
168	Mofo	Intenso	1	0,6
169	Mofo	Muito intenso	1,3	-
170	-	-	0	1,8
172	-	-	0	-
250	Mofo	Intenso	1,3	-
251	-	-	0	-
265	-	-	0	0,6
266	Mofo	Muito intenso	1	0,8
267	-	-	0	-
268	-	-	0	-
269	-	-	0	-
123	Mofo	Intenso	1	< LQ
153	-	-	0	-
154	Mofo	Intenso	1	-
200	-	-	0	-
208	-	-	0	-

256	-	-	0	< LQ
271	Mofo	Intenso	2	< LQ
	Mofo	Intenso		
310	Mofo	Muito intenso	1	-
311	Mofo	Muito intenso	1	-
122	Mofo	Moderado	2	1
	Mofo	Moderado		
185	Mofo	Intenso	1	0,6
186	Mofo	Moderado	1	6,8
187	-	-	0	-
280	Mofo	Muito intenso	2	-
	Mofo	Muito intenso	4	
45	-	-	0	1,1
46	-	-	0	1,8
47	Mofo	Ligeiro	4	-
	Mofo	Intenso		
	Mofo	Moderado		
25	-	-	0	-
1	Mofo	Ligeiro	1,7	-
108	-	-	0	-

Tabela A.2: Análise sensorial: aroma, intensidade e percentagem de rolhas contaminadas e quantificação de haloanisóis em rolhas colmatadas**.**

	Análise sensorial			**Quantificação de haloanisóis**
Nº de relatório de receção	**Aroma**	**Intensidade**	**% de rolhas contaminadas**	**[TCA] ng/L**
84	-	-	0	-
17	-	-	0	-
18	-	-	0	-
846	Mofo	Moderado	3,1	-
	Mofo	Intenso		
	Mofo	Ligeiro		
	Mofo	Intenso		
854	-	-	0	0,5
855	-	-	0	0,5
125	Mofo	Intenso	1	-