



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

ESTUDO DO PERFIL INTERNO DO GARGALO DE GARRAFAS E O SEU IMPACTO NA OXIDAÇÃO DO VINHO

por

Catarina Morais da Rocha

Setembro 2018



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

ESTUDO DO PERFIL INTERNO DO GARGALO DE GARRAFAS E O SEU IMPACTO NA OXIDAÇÃO DO VINHO

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade
Católica Portuguesa para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Alimentar

por

Catarina Morais da Rocha

Local: Symington Vinhos, SA

Orientação: Eng.^a Cláudia Santos

Coorientação: Professor César Ferreira

Setembro 2018

Dedicada a todos os que acreditaram em mim



Resumo

O presente estágio curricular teve como principal objetivo permitir o contacto direto com o meio profissional no âmbito do Mestrado em Engenharia Alimentar. O trabalho foi desenvolvido no Departamento de Qualidade de Materiais e Produto Acabado da Symington Family Estates e em parceria com o Laboratório de Vinhos da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa do Porto.

A oxidação precoce de vinhos é um fenómeno que ainda não está totalmente compreendido. Diferentes fatores intervêm neste processo, conduzindo ao desenvolvimento de efeitos negativos no sabor, aroma e cor do vinho. Um destes fatores poderá ser o perfil interno do gargalo, uma das características dimensionais a considerar na estrutura da garrafa.

Os objetivos do trabalho foram determinar a variabilidade do perfil interno do gargalo entre quatro modelos de garrafa (A, B, C e D) e avaliar o seu impacto na oxidação do vinho. De forma a alcançar os objetivos mencionados, efetuaram-se medições ao diâmetro interno do gargalo a partir dos 2 mm até aos 50 mm de profundidade a cinquenta garrafas de cada modelo. Posteriormente, com o intuito de avaliar o impacto desta variável na oxidação do vinho, selecionaram-se duas amostras representativas de cada modelo e simulou-se um envelhecimento forçado em laboratório ($T= 40^{\circ}\text{C}$ com adição de Cu^{2+} e Fe^{2+} ao vinho). Após vinte e um dias, executou-se a caracterização analítica das amostras através de marcadores de oxidação nomeadamente pH, dióxido de enxofre livre e total, aldeídos e cetonas, compostos voláteis e potencial de oxidação-redução.

Os resultados do primeiro estudo demonstraram que existem diferenças estatisticamente significativas na média do diâmetro interno do gargalo entre os quatro modelos de garrafa em todas as profundidades testadas. No segundo estudo, verificaram-se diferenças entre os modelos e entre réplicas do mesmo modelo, evidenciando o impacto da variável em estudo na oxidação do vinho.

Concluiu-se que existe heterogeneidade de perfil interno do gargalo entre os quatro modelos de garrafa que conduziu a padrões distintos de oxidação nas amostras representativas do estudo. É importante o desenvolvimento constante de trabalhos futuros no sistema de vedação para melhor compreensão do impacto do mesmo no fenómeno de oxidação que ocorre no vinho. O presente estudo tem grande impacto teórico e comercial no que diz respeito à produção da embalagem de vinhos e à compreensão do fenómeno de oxidação do vinho como fruto da interação de fatores exógenos e endógenos do próprio.

Palavras-chave: Garrafa; Vinho; Oxidação; Perfil interno do Gargalo.

Abstract

The present curricular internship had as main objective to allow direct contact with the professional environment in the scope of the Master in Food Engineering. The internship work was developed at the company Symington Family Estates, particularly in the Quality Department of Materials and Finished Product, and later in the Wine Laboratory of the Higher School of Biotechnology of the Portuguese Catholic University of Porto

The so-called premature oxidation of wines is a phenomenon that is not yet fully understood. Different factors contribute to it, leading to the development of negative effects on the wine's taste, smell and color. One of these factors could be the internal profile of the bottleneck, one of the dimensional characteristics to consider in the bottle's structure.

The aims of the study were to determine the variability of the internal profile of the bottleneck between four bottle models (A, B, C and D) and to evaluate their impact on wine oxidation. In order to achieve the mentioned objectives, measurements were made of the internal diameter of the bottleneck from 2 mm to 50 mm depth to fifty bottles from each model. Then, in order to evaluate the impact of this variable on wine oxidation, two representative samples of each bottle model were selected and a forced aging was simulated in the laboratory ($T = 40^{\circ}\text{C}$ with addition of Cu^{2+} and Fe^{2+} to the wine). After twenty-one days, the analytical characterization of the samples was carried out through oxidation markers namely pH, free and total sulfur dioxide, aldehydes and ketones, volatile compounds and oxidation-reduction potential.

The results of the first study demonstrated that there are significant differences in the mean internal diameter of the bottleneck between the four bottle models at all depths tested. In the second study, there were differences between the models and between replicates of the same model, evidencing the impact of the study variable on wine oxidation.

It was concluded that there is internal profile heterogeneity of the bottleneck between the four bottle models that led to different oxidation patterns in the representative samples of the study. The constant development of future work in the sealing system is crucial to better understand its impact on the wine oxidation. This study has a great theoretical and commercial impact with regard to the production of wine packaging and to understand the oxidation phenomenon as a result of an interaction of exogenous and endogenous factors.

Keywords: Bottle; Wine; Oxidation; Internal profile of the Bottleneck.

Agradecimentos

Queria agradecer à minha Professora e Coordenadora do Mestrado de Engenharia Alimentar, Alcina Morais, pela orientação e disponibilidade prestada durante todo o meu percurso académico como aluna na Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa do Porto.

À Eng.^a Cláudia Santos, por se disponibilizar e me ter possibilitado a realização do estágio curricular numa empresa prestigiada como a Symington. Todo o conhecimento adquirido e todas as experiências vivenciadas durante estes meses foram importantes, não só para o desenvolvimento do trabalho, mas também para a construção da minha pessoa. O meu muito obrigado pelas suas palavras amigas, pela sabedoria e força transmitida e ainda, por acreditar que eu conseguiria alcançar todas as etapas. Agradeço também a toda a excelente equipa do Departamento de Qualidade de Materiais e Produto Acabado.

Ao Professor António César Ferreira, pela disponibilidade na orientação e apoio prestado durante todo este projeto. À Rita Monforte por todo o apoio prestado no laboratório e no tratamento dos dados obtidos.

Em especial, à minha amiga Joana Soares, pela constante presença e pelo apoio prestado durante as análises laboratoriais e durante todo este meu percurso. Foram muitas as horas partilhadas contigo, tanto nos bons como nos piores momentos (desabafos, risos, choros, etc.). Admiro muito a tua força de vontade e terás sempre um lugar especial no meu coração. Obrigada amiga!

À minha irmã, Sofia Rocha, pelo fantástico apoio na elaboração de esquemas ilustrativos do trabalho e pela paciência (sei que por vezes não sou fácil). Obrigada irmãzinha!

Às minhas amigas, Ângela Alves, Marta Carvalho, Ana Margarida, Daniela Alves, Francisca Fernandes, pelo companheirismo, prontidão, compreensão, paciência e amizade.

À Mimi, “Vem cá Michel que levas com o Chinelle”.

À minha família, por acreditarem e tornarem este meu sonho possível!

De uma forma ou de outra, todos contribuíram para a concretização desta grande etapa na minha vida. Sem vocês não teria alcançado o sucesso.

Obrigada a todos do fundo do meu coração.

Índice

Resumo	5
Abstract	7
1. Introdução Geral	13
1.1. Apresentação da empresa	13
1.2. Atividades desenvolvidas	13
2. Enquadramento do tema	16
2.1. Embalagem de Vidro	16
2.1.1. Composição do vidro	17
2.1.2. Processo de produção	19
2.1.3. Aplicabilidade no setor das bebidas	25
2.1.4. <i>Design</i> das garrafas de vidro	27
2.1.5. Fecho das garrafas de vidro	28
2.1.6. Sistema de controlo do gargalo de garrafas	30
2.2. Vinho	31
2.2.1. Composição física e química da uva	31
2.2.2. Fermentação alcoólica	34
2.2.3. Envelhecimento do vinho	36
2.2.4. Impacto dos vedantes na qualidade do vinho	36
2.3. Processo de Oxidação	38
2.3.1. Compostos fenólicos	38
2.3.2. Oxidação não-enzimática do vinho	39
2.3.3. Papel do ferro e do cobre	40
2.3.4. Influência dos Compostos Carbonílicos (aldeídos e cetonas) na qualidade sensorial do vinho	41
2.3.5. Antioxidantes no vinho: Dióxido de Enxofre	43
2.4. Objetivo	44
3. Materiais e Métodos	46
3.1. Determinação da variabilidade do perfil interno de gargalos de garrafas	46
3.1.1. Amostragem	46
3.1.2. Equipamento utilizado	46
3.1.3. Metodologia aplicada	47
3.1.4. Análise de Dados	48
3.2. Avaliação do impacto do perfil interno de gargalos de garrafas na oxidação do vinho	48
3.2.1. Amostragem	48
3.2.2. Protocolo de envelhecimento forçado de vinho	48
3.2.3. Parâmetros químicos determinados nas amostras de vinho	50
3.2.4. Análise de Dados	52
4. Resultados e Discussão	54
4.1. Resultados obtidos na determinação da variabilidade do perfil interno de gargalos de garrafas	54
4.2. Resultados obtidos na avaliação do impacto do perfil interno de gargalos de garrafas na oxidação do vinho	58
5. Conclusão	64
6. Trabalho futuro	65
7. Apêndice	67
8. Bibliografia	78

1. Introdução Geral

1.1. Apresentação da empresa

A Symington Family Estates é o principal produtor de vinhos do Porto de categorias especiais, detendo as marcas Graham's, Dow's, Warre's, Cockburn's, Quinta do Vesúvio, Martinez, Gould Campbell e Quarles Harris. As vendas consolidadas das empresas de Vinho do Porto da família totalizam mais de um terço dos vinhos do Porto de categorias vendidos em todo o mundo (GEHVID, 2007).

A empresa alargou o seu portfólio de produtos com a produção de vinhos de mesa do Douro de reconhecida qualidade, destacando-se os vinhos Chryseia, Altano e Quinta de Roriz (Santos e Ribeiro, 2012).

Sendo o maior proprietário de vinhas na região do Douro, possui duas vinícolas importantes responsáveis pela produção dos principais vinhos DOC e Douro DOC: a Quinta do Sol e a Quinta do Bomfim (Symington, 2015).

Desde há poucos anos, os seus investimentos estenderam-se também ao vinho da Madeira, através de uma participação na Madeira Wine Company (Santos e Ribeiro, 2012).

Ao longo dos anos, a Symington obteve críticas favoráveis nas revistas Wine Spectator e Wine Enthusiast e múltiplos prémios internacionais no Internacional Wine Challenge, no Decanter World Wine Awards e no International Wine & Spirit Competition (Santos e Ribeiro, 2012).

O desenvolvimento do trabalho foi realizado no departamento de Qualidade de Materiais e Produto Acabado da empresa Symington Family Estates, sediado na instalação fabril de Engarrafamento da Quinta do Marco em Vila Nova de Gaia e, em parceria com o Laboratório de Vinhos da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa.

1.2. Atividades desenvolvidas

Durante o estágio curricular na Symington, foram realizadas outras actividades complementares para além do principal estudo do projeto.

Numa fase inicial, com o intuito de conhecer todo o trabalho executado pelo departamento de qualidade de materiais e produto acabado, colaborei nos vários setores, no laboratório, no controlo da capacidade e no produto acabado.

De forma a assegurar a qualidade, todos os materiais rececionados são encaminhados para o laboratório para posterior controlo rigoroso através de procedimentos documentados e aprovados. Foram efetuados ensaios laboratoriais de rotina de acordo com o plano de inspeção e ensaio; revisão da documentação de material presente no laboratório e participação na elaboração de métodos de ensaio e instruções de trabalho.

As garrafas de todas as linhas de engarrafamento em curso de produção são sujeitas a um controlo de capacidade. Para além disso, são controlados parâmetros como nível de enchimento, temperatura e densidade, bem como a verificação do estado da rolha e a realização do processo de filtração. De salientar também a participação ativa no controlo dos bicos de enchimento da Linha 4 da unidade fabril.

O controlo do produto acabado é efetuado em todas as Ordens de Produção (OP) de acordo com o especificado na mesma.

Em meados de Setembro realizou-se uma visita à Região do Douro que proporcionou a oportunidade de conhecer algumas das emblemáticas quintas da empresa (Quinta dos Malvedos, Quinta do Sol, Quinta do Bomfim, etc.) bem como assistir a todo o processo inerente à obtenção do Vinho do Porto.

Surgiu ainda a oportunidade de iniciar um projeto de elevada importância para a empresa - Uniformização de garrafas e rolhas para o Vinho do Porto - projeto este que já tinha sido realizado para o Vinho de Mesa. É um processo bastante moroso, que engloba o contributo de vários departamentos da empresa, mas que contribuirá para uma logística mais otimizada, menor quantidade de stock armazenado, melhor qualidade vedante e menor custos. Devido ao tempo limitado de estágio, apenas se procedeu ao levantamento da informação de todas as garrafas e rolhas utilizadas no engarrafamento do Vinho do Porto.

Para além de todo o trabalho desenvolvido na empresa, foi efetuada a interpolação da correção do efeito da temperatura na massa volúmica especificamente para vinhos licorosos com título alcoométrico volúmico de 20%, com base nos valores da tabela VII do método tipo IV de determinação da massa volúmica estabelecido pelo OIV e através do procedimento enviado pelo IVDP. Após validação dos dados obtidos, estes serão introduzidos no software da empresa, para o cálculo da correção da massa volúmica a 20°C, durante o controlo da capacidade.

Toda a constante aprendizagem permitiu desenvolver e aprofundar competências, tanto a nível pessoal como a nível profissional, nomeadamente espírito de equipa, autonomia, confiança, pensamento crítico e capacidade de comunicação.

A colaboração no estágio descrito permitiu o desenvolvimento do projeto abaixo mencionado, que tem como objetivo rever o impacto das propriedades da embalagem do vinho na sua oxidação, nomeadamente o gargalo e a heterogeneidade inerente ao mesmo.

2. Enquadramento do tema

A oxidação precoce de vinhos é um fenómeno que ainda não está totalmente compreendido, e no qual intervêm diferentes fatores como o processo de vinificação, a composição do vinho, as condições de engarrafamento e armazenamento, a rolha e até mesmo a garrafa (Lagorce-Tachon *et al.*, 2016). Especificamente, é necessário ter em consideração a influência que o sistema de vedação utilizado (fecho + garrafa) poderá ter na oxidação ocorrida em garrafas provenientes do mesmo lote de vinho (Lagorce-Tachon *et al.*, 2016).

Durante o envelhecimento do vinho em garrafa, pode ocorrer transferência de oxigénio da atmosfera através da rolha e através da interface entre o vidro da garrafa e a rolha. Deste modo é essencial efetuar estudos mais detalhados na transferência de oxigénio através do sistema composto pelo gargalo de vidro da garrafa/rolha de cortiça (Lagorce-Tachon *et al.*, 2016).

Sabe-se que é necessário alguma oxidação durante o processo de produção do vinho e durante o seu envelhecimento para se atingir a qualidade ideal do vinho (Bueno *et al.*, 2016). Uma oxidação controlada pode ter efeitos positivos no vinho como a estabilização da sua cor e a diminuição da sua adstringência (Bueno *et al.*, 2016). Porém, esta pode também originar alterações negativas na composição e propriedades sensoriais, como o desenvolvimento de cores amarelas e castanhas e a deterioração do aroma do mesmo (Oliveira *et al.*, 2011; Bueno *et al.*, 2016). Os compostos voláteis desempenham um papel de elevada relevância sensorial, especialmente em bebidas, podendo fornecer complexidade, originalidade e um carácter varietal ao aroma do vinho (Freitas *et al.*, 1999). A deterioração oxidativa do aroma do vinho é caracterizada maioritariamente pela formação de aldeídos, responsáveis pela perda de aromas cítricos e frescos e pelo desenvolvimento de específicos odores desagradáveis (Oliveira *et al.*, 2011; Bueno *et al.*, 2016).

É importante compreender e controlar as reações de oxidação-redução, uma vez que podem prejudicar a qualidade do vinho (Oliveira *et al.*, 2011; Bueno *et al.*, 2016).

2.1. Embalagem de Vidro

Atualmente a embalagem está bastante difundida e é essencial (Robertson, 2012).

A função básica de uma embalagem é conter um produto para que possa permitir o seu transporte, distribuição e manuseamento, protegendo-o contra choques, vibrações e compressões que possam ocorrer durante o trajeto (Robertson, 2012; Jorge, 2013). Esta

desempenha um papel fundamental na indústria alimentar devido às suas múltiplas funções (Jorge, 2013), uma vez que envolve, aprimora e protege os produtos que compramos, desde a fase de produção e armazenamento, até chegar ao consumidor final. A sua não utilização tornaria todo o processo de manuseamento de produtos difícil, ineficiente e dispendioso, e o marketing de consumo moderno seria virtualmente impossível (Robertson, 2012). Assim, para além de conter o produto, a embalagem desempenha um papel importante na qualidade e segurança dos diversos produtos alimentares, fornecendo proteção contra impactos ambientais, químicos, e alterações físicas que possam ocorrer (Risch, 2009; Robertson, 2012; Jorge, 2013). Pela sua importância, a proteção é considerada frequentemente como sendo a principal função de uma embalagem (Robertson, 2012), e é conseguida através de propriedades que têm vindo a ser desenvolvidas nas embalagens, como por exemplo a barreira ao oxigénio, humidade, dióxido de carbono e outros gases, bem como sabores e aromas. Adicionalmente, também impede a entrada de luz de forma a proteger os nutrientes e as cores de um produto de sofrerem deterioração (Risch, 2009). Na maioria dos produtos, a proteção oferecida pela embalagem é uma parte essencial do processo de preservação (Robertson, 2012).

Uma embalagem eficiente é de uma importância capital para a distribuição e proteção dos alimentos (NP 12726, 2001). É uma necessidade para cada tipo de produto, representando um elo essencial entre o produtor e o consumidor que, se não for corretamente elaborada, poderá diminuir a posição do produto no mercado. Deve ser capaz de atender às exigências das linhas de processamento e de enchimento (Paine & Paine, 1992). Uma embalagem inadequada poderá também conduzir a alteração ou a perda do conteúdo da embalagem (NP-12726, 2001).

Aproximadamente 70% das embalagens são utilizadas para fins alimentares, nomeadamente para alimentos e bebidas (Emblem, 2012), sendo elaboradas a partir de diversos materiais como metal, plástico, vidro ou papel (Jorge, 2013). No caso do vinho, a mais comum é a de vidro (Robertson, 2012; Emblem, 2012; Grupo Sidel).

2.1.1. Composição do vidro

O vidro é um dos materiais de embalagem mais antigos e persiste como opção nobre para embalar até os dias de hoje (Emblem, 2012; Grayhurst, 2012; Jorge, 2013). É geralmente definido como uma substância amorfa, proveniente da fusão de substâncias inorgânicas minerais, de sílica e de outros compostos (Robertson, 2012; Jorge 2013; Medici *et al.*, 2014).

Quase 90% do vidro produzido no mundo é formado principalmente por sílica, sódio e cálcio (Robertson, 2012; Grayhurst, 2012; Jorge 2013; Medici *et al.*, 2014).

A seleção das matérias-primas deve ter em consideração a aplicação a que se destina o vidro, podendo ser necessário em alguns casos utilizar fontes diferentes de um mesmo componente. Os vidros sodo-cálcicos são os vidros mais comuns e constituem a maior parte das garrafas, frascos e potes (Aleixo *et al.*, 2016).

Na composição da maioria dos vidros existem proporções variáveis de óxidos que desempenham funções específicas (Tabela 1) (Robertson, 2012; Jorge 2013; Medici *et al.*, 2014).

Tabela 1- Composição do vidro (Fonte: Jorge, 2013).

Silício	SiO ₂	70-72%
Sódio	Na ₂ O	12-14%
Cálcio	CaO	9-11%
Magnésio	MgO	0-3%
Alumínio	Al ₂ O ₃	1-2%
Potássio	K ₂ O	0-1%

Segundo a publicação *Envases de Vidrio* da Asociación Nacional de Empresas de Fabricación Automática de Envases de Vidrio ANFEVI (2009), os principais componentes utilizados no processo de produção de embalagens de vidro são encontrados na natureza. Eles são abundantes e de fácil extração o que garante um impacto ambiental reduzido (Manoel, 2010).

O dióxido de silício (SiO₂), também conhecido como sílica, é a matéria-prima básica para a produção de vidro comercial, que deriva principalmente da areia (Manoel, 2010; Robertson, 2012; Grayhurst, 2012). Atua como vitrificante, para a criação da rede vítrea, e funde-se a temperaturas muito elevadas (1723°C) (Manoel, 2010; Robertson, 2012; Medici *et al.*, 2014; Aleixo *et al.*, 2016).

Os fundentes mais comuns são os óxidos de metais alcalinos, nomeadamente o óxido de sódio (Na₂O) e o óxido de potássio (K₂O), os quais, ao longo da história da produção vidreira, eram introduzidos no vidro através de diversas fontes, com o intuito de diminuir a temperatura de fusão e a viscosidade da sílica (Manoel, 2010; Jorge, 2013; Robertson 2012;

Medici *et al.*, 2014). Desta forma, é possível a produção de vidro a temperaturas tecnologicamente viáveis (Jorge, 2013).

Os óxidos estabilizantes geralmente utilizados são os carbonatos de cálcio e de magnésio, provenientes do calcário e dolomita, respectivamente. Estes elementos impedem a solubilidade do vidro em água, actuando como “ponte” entre dois ou mais iões de oxigénio, restabelecendo, assim, a rede vítrea. Conferem, pois, maior resistência térmica, química e mecânica ao vidro e ainda permitem a sua moldagem (Robertson, 2012; Grayhurst, 2012; Jorge, 2013; Medici *et al.*, 2014).

Com estes três grupos de matérias-primas já é possível a produção de vidro a temperaturas razoáveis e sua estabilidade ao longo do tempo. No entanto, como o vidro é um material viscoso, mesmo a altas temperaturas, as matérias-primas originam a formação de gases durante o processo de fusão. Para aumentar a possibilidade de libertação destas bolhas gasosas são adicionados afinantes, como por exemplo o sulfato de sódio (Na_2SO_4) (Jorge, 2013).

Todo este conhecimento é importante para o processo de produção das embalagens de vidro, uma vez que a seleção incorreta dos componentes a utilizar poderá condicionar o formato da embalagem pretendido, conduzindo a uma grande heterogeneidade na sua forma (Robertson, 2012; Grayhurst, 2012).

2.1.2. Processo de produção

O vidro é produzido no formato de embalagem que melhor se adapte ao tipo de produto (Grayhurst, 2012). No caso do vinho, a forma mais comum de embalagem é a garrafa de vidro vedada com cortiça (Robertson, 2012).

Na indústria do vidro de embalagem, o processo produtivo envolve vários procedimentos, iniciando com a chegada das matérias-primas e terminando na paletização. Pode, assim ser dividido em quatro processos principais, que podem conter uma ou mais fases, descritas de seguida:

1. Processo de produção do vidro;
 - a) Composição
 - b) Fusão
2. Processo de produção da embalagem;
 - a) Moldação (Soprado-Soprado)

- b) Tratamento de superfície a quente
 - c) Recozimento
 - d) Tratamento de superfície a frio
3. Processo de controlo de qualidade
 4. Processo de paletização (Manoel, 2010; BA Vidro, 2015)

Na figura 1 está representado o processo de produção das embalagens de vidro.

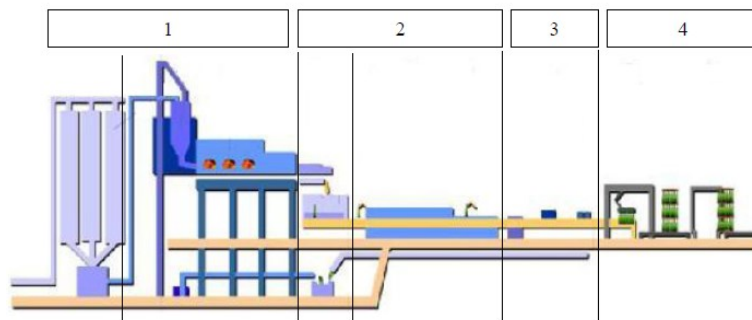


Figura 1- Representação do processo produtivo de uma unidade fabril de embalagens de vidro (Fonte: Manoel, 2010).

- **Composição**

Numa fase inicial, as matérias-primas devem ser inspeccionadas quanto à granulometria, densidade e humidade, de forma a garantir que o processo seja reprodutivo (Jorge, 2013). Após inspeção, são armazenadas em silos para facilitar a sua dosagem e mistura, bem como evitar a absorção de humidade e a emissão de partículas para a atmosfera (Manoel, 2010; Jorge, 2013).

Em função da proporção requerida, as matérias-primas são pesadas e misturadas, com vista à composição da massa a vitrificar nos fornos. A esta mistura é incorporado casco tratado, resíduos de vidro moído provenientes de reciclagem interna e/ou externa, com o objetivo de os valorizar, bem como economizar energia e matéria-prima (Manoel, 2010; Robertson, 2012; Jorge, 2013; BA Vidro, 2015).

- **Fusão**

O processo de fusão do material ocorre em fornos regenerativos (Figura 2), assim designados por terem a capacidade de reaproveitar o ar quente que geram, mantidos a temperaturas próximas dos 1600°C e com uma vida útil de cerca de 12 anos (Manoel, 2010). Este processo é caracterizado por duas fases: a primeira fase consiste na mudança da fase sólida para a fase líquida e a segunda fase corresponde ao ajuste de temperatura do vidro fundido (Manoel, 2010; Robertson, 2012).

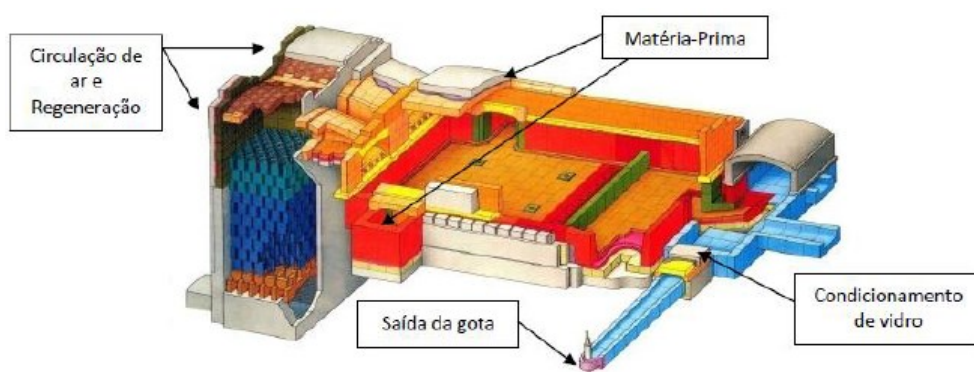


Figura 2- Representação de um forno de fusão (Fonte: Manoel, 2010).

A composição é alimentada através de uma abertura na zona lateral do forno, onde o combustível é o gás natural que funde as matérias-primas aquecendo o leito de vidro (Manoel, 2010; Jorge, 2013). De seguida, ocorre o refinamento do líquido, também conhecido como “afinação”, em que os gases produzidos (principalmente dióxido de carbono, dióxido de enxofre e vapor de água) pela reacção química sobem à superfície do vidro liquefeito e são removidos (Robertson, 2012).

A homogeneidade térmica de toda a massa fundida é uma condição essencial para se obter um produto de qualidade (Robertson, 2012; BA Vidro, 2015).

Após o processo de afinação, o vidro fundido move-se ao longo do forno em direcção às máquinas de moldagem, onde se inicia a segunda fase que corresponde ao resfriamento do vidro até atingir a viscosidade necessária para a operação de moldagem. A temperatura de fusão é reduzida para aproximadamente 1150°C, sendo a massa posteriormente transportada por canais de distribuição, denominados alimentadores, até as máquinas de moldagem (Manoel, 2010; Robertson 2012; Jorge, 2013).

Na extremidade do alimentador, o fluxo de vidro fundido é cortado em gotas com o auxílio de tesouras automáticas (Manoel, 2010; BA Vidro, 2015) O peso, a forma e a temperatura durante a formação da gota são controlados com enorme precisão (Manoel, 2010; Robertson, 2012). No momento da queda da gota, por efeito da gravidade, está terminada a produção do vidro (Manoel, 2010).

- **Moldação**

A moldação é a fase mais importante da produção, em que o vidro adquire a forma da embalagem final pretendida (Manoel, 2010).

As máquinas de Secção Independente (IS) são a chave da produção da indústria de embalagens de vidro atual (Manoel, 2010; Grayhurst, 2012). As suas secções independentes (podem ter 6, 8, 10, 12 ou 16 secções) permitiram um enorme avanço na capacidade produtiva pelo fato de possibilitarem a paragem dos mesmos sem que a máquina interrompa o seu funcionamento completo, agilizando a produção e facilitando as intervenções para reparações e manutenção sem parar a produção por completo. Cada secção pode receber entre uma e quatro gotas de vidro, produzindo assim até quatro embalagens de cada vez. A flexibilidade da máquina reside no fato de em poucas horas poder alterar o seu processo de funcionamento (Manoel, 2010).

Durante a moldação, é importante o controlo das variáveis (refrigeração do molde, tempo de molde de principiar, temperatura da gota, etc.), para que o produto seja formado no instante certo, dado que o vidro arrefece com o decorrer do tempo provocando um aumento da sua viscosidade. Ou seja, a massa de vidro deve estar líquida o suficiente para ser conformada, caso contrário o vidro ficará rígido e impedirá a distribuição e extensão do mesmo pelo molde (Manoel, 2010).

Após o corte da gota, esta é direcionada para as diversas secções das máquinas IS para se obter a embalagem pretendida que, dependendo do tipo de geometria, os processos de moldação diferem (Manoel, 2010).

No fim do processo de produção das embalagens, à saída das máquinas IS, o vidro encontra-se a uma temperatura já próxima dos 500 °C.

Processo soprado-soprado (SS)

Garrafas com diâmetros de embocadura da marisa de 3 a 38 mm são produzidas pelo processo soprado-soprado (Manoel, 2010). Este processo de moldação utiliza tecnologia pneumática e dois moldes de ferro fundido: um molde de principiar para se obter uma pré-forma do produto final e um molde final que confere ao vidro a forma final da garrafa. (Manoel, 2010; Grayhurst, 2012). A diferença entre os diferentes processos de moldação existentes reside no tipo de tecnologia que dá origem à pré-forma do produto final (Manoel, 2010).

A primeira fase do processo inicia-se com a introdução da gota, previamente cortada pelas tesouras, no contra-molde (Figura 3 – Imagem A), onde é assente por ação pneumática (Figura 3 – Imagem B). Em seguida, é lhe dada a forma do molde de principiar, onde está inserida, por ação de um sopro contrário ao primeiro (Figura 3 – Imagem C). Nesta altura é formado o chamado *parison*, a pré-forma da embalagem final. Esta pré-forma fica com o gargalo formado de imediato e vai condicionar o sucesso da moldação final, uma vez que influencia, de uma forma importante, a capacidade do vidro em esticar-se para as zonas pretendidas da embalagem final. Na segunda fase do processo, o *parison* é transferido com rotação de 180° para o molde final (Figura 3 – Imagem D). É aplicado novamente um sopro por ação pneumática no molde (Figura 3 – Imagem F) para forçar o vidro a adaptar-se à superfície metálica do molde, adquirindo-se a forma da embalagem final. Para finalizar o processo, o molde é aberto e um mecanismo de garras retira a garrafa produzida (Figura 3 – Imagem G) da máquina IS (Manoel, 2010; Grayhurst, 2012; BA Vidro, 2015).

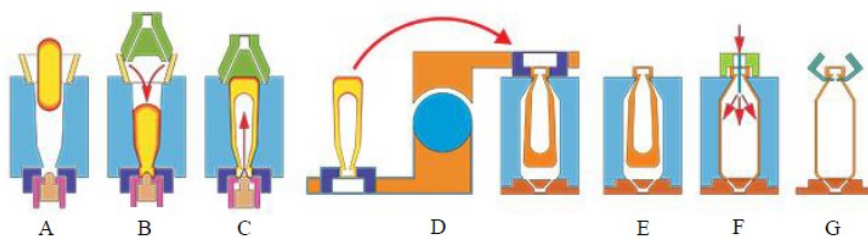


Figura 3 - Representação dos passos do processo de moldação soprado-soprado (Fonte: Manoel, 2010).

Geralmente, um conjunto é constituído por 6 a 40 moldes idênticos para uma máquina de produção de garrafas. Cada conjunto de moldes possui um número que é formado nas garrafas que foram produzidas pelo respetivo molde (Grayhurst, 2012).

Apesar deste processo de moldação ser economicamente mais rentável, apresenta certas limitações. A distribuição do vidro não é facilmente controlável, uma vez que a cavidade interior do *parison* é criada por um sopro de um mecanismo pneumático. Este sopro pode conduzir a irregularidades na espessura da parede das garrafas devido às condições da gota. Adicionalmente, a temperatura é um fator de grande influência no comportamento da gota. Por exemplo, temperaturas mais baixas em certas zonas da gota vão fazer com que o vidro estire de forma diferente, resultando numa distribuição não uniforme dentro da cavidade (Manoel, 2010).

- **Tratamento de superfície a quente**

Geralmente as embalagens recebem um tratamento de superfície aplicado a quente antes da fase de recozimento e após a sua saída da máquina IS (Manoel, 2010; Robertson, 2012; Jorge, 2013). Este primeiro tratamento consiste na aplicação de substâncias nas superfícies das embalagens (cloretos de estanho ou titânio) interna e/ou externa, após a moldação, por forma a melhorar ou a manter as propriedades mecânicas e/ou químicas. Esta camada protetora permitirá melhorar a durabilidade da superfície do vidro, diminuir o atrito ou a alcalinidade (Manoel, 2010; NP-3548, 1988).

- **Recozimento**

Durante a moldação, o vidro contacta com as paredes dos moldes que se encontram a temperaturas relativamente baixas. As camadas externas da garrafa apresentam-se, por isso, bastante mais frias que as interiores e o diferencial de temperatura tende a manter-se dada a fraca condutibilidade do vidro, pelo que é efetuado um tratamento térmico, denominado recozimento (Robertson, 2012; Jorge, 2013; BA, 2015). Este processo é realizado numa arca de recozimento, onde se utiliza gás natural que atinge temperaturas máximas de 550°C, e que consiste num reaquecimento e arrefecimento gradual e controlado, permitindo a homogeneização da estrutura vítrea e o equilíbrio das tensões internas resultantes do arrefecimento da embalagem após saída da fase de moldagem. É importante a realização desta fase dado que as tensões internas criadas tornam a embalagem mais frágil e fácil de quebrar perante o choque (Manoel, 2010).

- **Tratamento de superfície a frio**

Após saída da arca de recozimento, é aplicado um último tratamento de superfície a frio às embalagens, que consiste num revestimento com polietileno, com o intuito de as tornar mais resistentes à ocorrência de riscos (Manoel, 2010).

- **Controlo de qualidade**

De forma a garantir a qualidade dos produtos as garrafas são inspecionadas em linha através de máquinas de inspeção automática. Estas possuem diversos mecanismos de deteção de defeitos do vidro e de moldagem que eliminam as não conformes, evitando a sua entrada no mercado (Manoel, 2010; Jorge, 2013; BA Vidro, 2015).

As embalagens não conformes são direcionadas de imediato para o circuito de refugo que conduz o vidro para o tratamento de casco, com vista a ser reaproveitado. De forma a identificar possíveis defeitos reincidentes, as garrafas possuem um código de pontos que identifica o molde que lhes deu origem. Desta forma é possível, em tempo útil, proceder à identificação de situações anómalas na produção das embalagens e proceder à substituição dos moldes defeituosos (Manoel, 2010).

Verificada a conformidade da embalagem com todas as especificações requeridas, esta continua o seu curso em linha para posterior paletização (Manoel, 2010).

- **Paletização**

Numa fase final, as embalagens de vidro são acondicionadas à saída das linhas de produção por camadas, em paletes. Posteriormente são cobertas com filme de plástico retrátil que se destina a proteger todas as unidades produzidas, bem como facilitar o seu transporte. As paletes assim formadas são devidamente transportadas para o local de armazenamento, estando as garrafas prontas para serem enchidas (BA Vidro, 2015).

2.1.3. Aplicabilidade no setor das bebidas

As propriedades únicas do vidro fazem gerar uma imagem de alta qualidade e explicam a sua aplicação no setor do mercado de bebidas, como cerveja, refrigerantes, refrescos, vinhos e destilados (Emblem, 2012; Grupo Sidel).

Embora a embalagem de vidro enfrente uma concorrência cada vez maior de outros tipos de embalagens, esta tem um elevado nível de aceitação por parte do consumidor e é percebida como um formato de embalagem de qualidade "*premium*" (Grupo Sidel).

A flexibilidade do vidro no campo das embalagens pode ser percebida pela variedade de produtos que são comercializados em formato de frascos e garrafas (Grupo Verallia). Devido às suas propriedades, permite uma possibilidade enorme de combinações na transformação do vidro original, garantindo a renovação constante do *design* das embalagens (Jorge, 2013). Pode ser também produzida em várias tonalidades e cores, de acordo com as necessidades e desejos dos clientes e dos mercados. O vidro escuro tem como objetivo proteger a bebida da incidência de luz, que poderá afetar as características do vinho, bem como a sua evolução, envelhecimento e conservação. Por sua vez, as garrafas de vidro branco, são normalmente utilizadas para vinhos rosés, com o objetivo de destacar a cor do vinho. Apesar de não existir nenhum critério relativamente à escolha da cor, é comum a utilização de garrafas com vidro escuro para vinhos tintos e garrafas com vidro branco para vinhos brancos e rosés (Global Embalagem, 2018). A possibilidade de utilização de cores aumenta a percepção da embalagem e do produto, dando suporte às estratégias de marketing das indústrias e dos clientes (Grupo Verallia). Na figura 4 pode ser visualizado alguns formatos e tonalidades de embalagens utilizadas em vinho.



Figura 4 – Diferentes formatos e tonalidades de embalagens de vinho (Fonte: Global Embalagem, 2018).

O vidro é considerado um material com elevada inércia química, não exercendo nenhuma interferência no sabor das bebidas, zelando pela autenticidade dos produtos e atendendo à exigência dos consumidores – cada vez mais preocupados com a qualidade dos produtos levados à mesa. Desta forma, as embalagens de vidro garantem maior preservação do

conteúdo e prazos de validade em geral duas vezes maiores do que outros materiais (Grupo Verallia). Os principais compostos extraídos para soluções aquosas são o sódio e o potássio, que não têm efeitos significativos nas características organolépticas ou a nível da segurança alimentar. A contaminação por chumbo é extremamente difícil de ocorrer, uma vez que estes metais raramente entram na composição do vidro utilizado no setor das bebidas. No entanto, bebidas alcoólicas em garrafas de cristal, nomeadamente licores e vinho do Porto, podem adquirir teores de chumbo elevados após curto tempo de contacto (Jorge, 2013).

2.1.4. *Design* das garrafas de vidro

É importante assegurar o *design* correto da garrafa de vidro para cada tipo de produto (Grayhurst, 2012). Na figura 5 está representada a anatomia de uma garrafa de vinho: marisa (1), gargalo (2), ombro (3), corpo (4) e fundo (5).



Figura 5- Anatomia de uma garrafa de vinho (Fonte: Global Embalagem, 2017).

As embalagens dos produtos líquidos geralmente possuem um diâmetro da marisa pequeno para facilitar a passagem dos mesmos. Para além dos requisitos de enchimento e esvaziamento, devem ser considerados a natureza e o modo de rotular a garrafa, bem como a compatibilidade com os sistemas de embalagem e expedição (Robertson, 2012). De acordo com a NP 3548 (1988), a marisa corresponde à porção da garrafa destinada a receber o fecho. Deve ser compatível com o fecho, podendo ser amplamente classificada pela sua dimensão (expresso como o diâmetro interno nominal em milímetros) e pelo método de vedação (Robertson, 2012). Contém diversas áreas específicas, nomeadamente a saia da marisa que permite a movimentação da garrafa durante a sua produção (NP 3548, 1988).

O *design* do gargalo das garrafas tem uma grande influência na taxa e eficiência de enchimento, bem como na facilidade com que o produto é esvaziado (Grayhurst, 2012). De

acordo com a NP 3548 (1988), o gargalo corresponde à porção da embalagem entre a marisa e o ombro. Um volume livre existente entre o produto contido na garrafa e o topo da garrafa, denominado por espaço vazio, é necessário para facilitar o enchimento, fornecer expansão térmica ou permitir um vácuo necessário para controlar a deterioração do produto. O espaço vazio dita o nível de enchimento da garrafa, que geralmente varia entre 1% e 5% da capacidade total da garrafa, dependendo do tipo de produto, tipo de fecho, condições de enchimento e tipo de mercado final. É um requisito importante para assegurar a segurança da garrafa e dos consumidores (BA Vidro).

As marisas e os gargalos das garrafas devem estar de acordo com as normas existentes. Cada tipo de produto/fecho tem as suas restrições. No caso dos vinhos, a principal restrição está relacionada com o diâmetro interno do gargalo e conicidade que deve estar de acordo com as exigências da produção (BA Vidro). O gargalo CETIE (Centro Técnico Internacional de Engarrafamento) pretende garantir a vedação e uma correta introdução da rolha, assegurar uma correta extração da rolha com o saca-rolhas, se forem cumpridas todas as regras do arrolhamento e, uniformizar os perfis e as dimensões internas e externas dos gargalos, independentemente do tipo de garrafa (Cardoso, 2013).

Na superfície do vidro das garrafas as gravações ou marcas são comuns, podendo ser números, letras ou figuras. Estas podem identificar por exemplo o fabricante, a referência do produto, o número do molde em que a embalagem foi moldada, a capacidade, ano e trimestre de fabrico, o produto que se destina a conter, servir como decoração, etc. (NP 3548, 1988).

2.1.5. Fecho das garrafas de vidro

O fecho é um aspeto crítico nas embalagens de vidro. Embora o vidro seja um excelente material de barreira contra a humidade, gases e odores, um incorreto *design* ou aplicação do fecho pode conduzir a efeitos negativos na protecção do produto contra a deterioração (Robertson, 2012).

É necessário a utilização de fechos para desempenhar certas funções, sem afetar ou ser afetado pelo conteúdo da embalagem, destacando-se as seguintes:

1. Fornecer uma vedação hermética eficaz para impedir a passagem de sólidos, líquidos ou gases para dentro ou fora da embalagem;
2. Fornecer abertura fácil e voltar a selar a embalagem;
3. Garantir a inviolabilidade da embalagem (Robertson, 2012).

Há centenas de anos que a cortiça natural é o vedante por excelência para o vinho, escolhido por mais de 70% dos produtores mundiais para cerca de 12 mil milhões de garrafas produzidas anualmente (APCOR, 2015).

Através de uma série de estudos sensoriais, descobriu-se que os consumidores acreditam que os vinhos engarrafados com rolhas de cortiça natural são vinhos de maior qualidade do que os vinhos engarrafados com vedantes alternativos (Azevedo *et al.*, 2014).

A cortiça é um tecido celular suberizado produzido continuamente pelo felogêneo do sobreiro (*Quercus suber L.*), espécies nativas da região Mediterrânica (Azevedo *et al.*, 2014). É caracterizada como um excelente material para vedar garrafas de vinho devido à sua performance física e durabilidade, e ainda permite um desenvolvimento equilibrado do vinho durante o seu envelhecimento em garrafa através das suas características de transferência de oxigénio. Para além de que tem uma pegada favorável e está associado às florestas de sobreiro, um ecossistema sustentável com elevada biodiversidade (Oliveira *et al.*, 2013).

A sua fácil adaptação ao gargalo da garrafa é devido à sua estrutura celular (Cardoso, 2013). O interior da cortiça é composto por uma colmeia de células microscópicas de suberina, um ácido complexo, preenchidas com uma mistura gasosa quase idêntica à do ar. É leve, praticamente impermeável a líquidos e gases graças à suberina e cerina presentes na constituição das suas células, elástica e compressível, o que permite que uma rolha possa ser facilmente comprimida e recupere a sua forma inicial uma vez descomprimida, garantindo assim uma perfeita adaptação ao gargalo da garrafa. Esta adaptação é também dinâmica ao longo do tempo, pois acompanha as dilatações e contrações que o vinho sofre devido às variações da temperatura ambiente, assegurando a estanquicidade da garrafa (APCOR, 2015).

Existe uma infinidade de rolhas, disponíveis em inúmeros calibres e formatos, de forma a adaptarem-se à enorme diversidade de garrafas e a todo o tipo de vinho. Os calibres fabricados podem ser ajustados de forma a assegurar o desempenho da rolha num determinado modelo de garrafa (APCOR, 2015). A rolha deverá ser dimensionada segundo o perfil do gargalo, uma vez que o comprimento da mesma fica condicionado pela conicidade da garrafa (Marcelino Cortiças, 2004). Relativamente ao diâmetro da rolha, este deverá ser cerca de 6 mm superior ao diâmetro menor do gargalo da garrafa (APCOR, 2015). Para vinhos de estágio aconselham-se rolhas de 45 e/ou 49 mm de comprimento e 24 mm de diâmetro, e para vinhos de maior responsabilidade, especialmente gaseificados, aconselham-se rolhas de 25 ou 26 mm de diâmetro (Marcelino Cortiças, 2004).

Do ponto de vista técnico, é fundamental uma correta preconização e utilização da rolha de cortiça para evitar erros tais como, dificuldade de inserção, rolhas marcadas pela maxila (pregas), fuga de vinho devido a pressão interna e perfil do gargalo acima da especificação (APCOR, 2015).

É de notar que o mercado está cada vez mais exigente, sendo importante a consulta detalhada do perfil interno do gargalo da garrafa a utilizar, de forma a optar pela dimensão da rolha mais ajustada ao cumprimento da sua função vedante (Cardoso, 2013).

2.1.6. Sistema de controlo do gargalo de garrafas

O controlo do perfil interno do gargalo é um parâmetro de controlo importante para fabricantes de garrafas, produtores de rolhas e adegas (EGITRON, 2018).

O PerfiLab (Figura 6) é um sistema que automatiza o processo de controlo do perfil interno do gargalo de garrafas, através de um mecanismo simples e de fácil manutenção, controlado por microprocessador e por um pacote de software de fácil utilização. Permite recolher valores do diâmetro a 0° ou a 0° e 90°, informação útil para determinar se o gargalo da garrafa apresenta ou não ovalidade (EGITRON, 2018).

Os valores medidos ao longo do gargalo da garrafa são expressos em milímetros (mm), podendo alcançar profundidades até 55 mm. O intervalo entre leituras pode ser de 1 mm, 2 mm ou 5 mm (EGITRON, 2018).

É fornecido com um software desenvolvido em ambiente WinBs, para controlo do equipamento, configuração dos ensaios, recolha de valores e impressão de relatórios (EGITRON, 2018).



Figura 6- Equipamento de controlo do perfil de gargalos de garrafas (Fonte: EGITRON, 2018).

2.2. Vinho

O vinho é uma bebida alcoólica, resultante do processo de fermentação do mosto de uvas esmagadas por intermédio de leveduras e de um processo subsequente de envelhecimento (Mendes, 2008; Teixeira, 2011; Robertson, 2012).

A sua composição química é determinada por vários fatores, que incluem, a variedade da uva, as condições geográficas e vitícolas da cultura da uva, a ecologia microbiana da uva e processos de fermentação, bem como as práticas de vinificação (Fleet, 2003; Fleet, 2008; Teixeira, 2011).

2.2.1. Composição física e química da uva

A uva é a principal matéria-prima para a produção do vinho (Mendes, 2008; Dharmadhikari, 1994).

As uvas estão aglomeradas em cachos e cada cacho é constituído por duas partes distintas: o engaço e os bagos. O engaço representa 3 a 9% do peso do cacho e determina a sua estrutura, enquanto o bago de uva representa 91 a 97% do peso do cacho, sendo constituído por um grupo de tecidos (pericarpo) que se divide em exocarpo (película), mesocarpo (polpa) e endocarpo que contém as sementes (Figura 7) (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008).

A película, parte externa do bago, atua como uma barreira hidrofóbica de protecção contra danos mecânicos, desidratação, infeções fúngicas e radiação UV (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008; Carvalho, 2009). É uma membrana heterogénea e elástica que se divide em três camadas distintas: (1) a camada exterior, a cutícula, formada por ácidos gordos hidroxilados (cutina), e coberta por ceras hidrofóbicas; (2) a epiderme intermédia, constituída por uma ou duas camadas de células; e (3) a camada interna, a hipoderme, constituída por várias camadas de células que contém a maior parte dos compostos fenólicos presentes na película (Mendes, 2008; Carvalho, 2009).

Os principais componentes presentes na película são a celulose, ácidos orgânicos, minerais, flavonóides (flavonas e/ou antocianinas), substâncias aromáticas e taninos (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008; Carvalho, 2009).

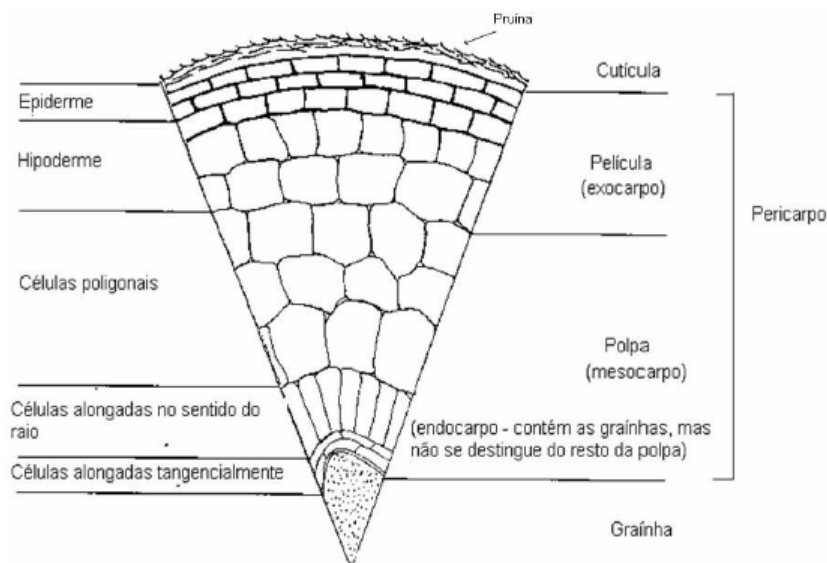


Figura 7- Representação de um bago (Fonte: Mendes, 2008).

A polpa representa a maior parte do volume do bago (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008). As suas células possuem vacúolos de grande dimensão que contém o suco. Quando o bago é esmagado, as células frágeis da polpa são quebradas e o suco é libertado (Dharmadhikari, 1994). Os principais constituintes químicos da polpa são: os açúcares, os ácidos e substâncias azotadas e minerais (Mendes, 2008).

As sementes (grainhas) são ricas em taninos (Dharmadhikari, 1994; Oliveira, 2006; Mendes, 2008), que são extraídos durante a fermentação, em vinhos tintos (Dharmadhikari, 1994).

A composição química da uva é extremamente complexa (Mendes, 2008). O suco da uva contém 70 a 80% de água e sólidos dissolvidos, que incluem inúmeros compostos orgânicos e inorgânicos (Dharmadhikari, 1994).

Os principais grupos de compostos químicos do ponto de vista enológico são:

1. Açúcares

Na uva, os monossacarídeos predominantes são a glucose e a frutose. Estes açúcares redutores, durante o processo de vinificação, são transformados em álcool e dióxido de carbono por ação de leveduras (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008). O seu teor pode variar entre 150 a 250 g/L (Dharmadhikari, 1994; Costa, 2012).

2. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos da uva estão armazenados sobretudo nos vacúolos da polpa, sendo os principais o ácido tartárico, o ácido málico e o ácido cítrico (Dharmadhikari, 1994; Oliveira, 2006; Mendes, 2008; Costa, 2012). Estes são responsáveis pelo sabor picante e têm uma influência marcante na estabilidade, cor e pH do vinho (Dharmadhikari, 1994).

3. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são um grupo de compostos aromáticos com substituintes OH, do qual fazem parte os flavonóides, as antocianinas, os ácidos fenólicos e taninos. Estão presentes principalmente nas sementes e película da uva (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008; Costa, 2012). Desempenham um papel vital na determinação da cor e sabor do vinho, uma vez que estão envolvidos nas reações de escurecimento que ocorrem tanto nas uvas como nos vinhos. Também se destacam durante o envelhecimento e maturação do vinho (Dharmadhikari, 1994).

4. Compostos com átomos de azoto

As uvas contêm várias substâncias azotadas presentes na forma de catião amônio (NH_4^+), aminoácidos, polipéptidos e proteínas (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008; Costa, 2012). Estes compostos são importantes dado que servem de nutriente para leveduras e bactérias do ácido láctico. O azoto influencia a formação de biomassa, a taxa de fermentação e a produção de vários subprodutos, que por sua vez, afeta os atributos sensoriais do vinho. Azoto insuficiente no mosto pode provocar uma fermentação lenta ou parada e a formação de um odor de “ovo podre” (H_2S) (Dharmadhikari, 1994).

5. Compostos aromáticos

O aroma do bago da uva provém da justaposição de diferentes compostos (álcoois, hidrocarbonetos, compostos carbonílicos, ésteres e terpenóides) voláteis e semi-voláteis, tanto os odoríferos como os precursores aromáticos, que dependem de várias variáveis como da casta, do clima e do solo onde se desenvolve (Mendes, 2008; Costa, 2012). Os compostos responsáveis pelo aroma encontram-se nas células hipodérmicas, essencialmente na película

(Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008; Costa, 2012), todavia em algumas castas também poderão estar presentes na polpa (Mendes, 2008). Estes compostos vão contribuir para o aroma varietal do vinho, sendo que a concentração tende a aumentar durante o envelhecimento do mesmo (Dharmadhikari, 1994; Costa, 2012).

A uva não é a única via responsável pela presença de compostos voláteis odoríferos no vinho. Durante a fermentação alcoólica e envelhecimento em casco ou em garrafa, ocorrem reações que originam a formação de outros compostos de aroma (Dharmadhikari, 1994; Costa, 2012).

6. Sais minerais

A maior parte das substâncias minerais das uvas estão na forma de sais de potássio, sódio, ferro, fosfatos, sulfato, cloreto e cálcio. Representam 2 a 3% do peso da película e 1 a 2% do peso da polpa, sendo absorvidos pela videira através do solo (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008);

7. Substâncias pécticas

As substâncias pécticas estão presentes na parede celular da uva e desempenham a função de agentes de união intercelular. São polissacarídeos complexos formados por monômeros de ácido galacturónico ligados entre si. Fazem parte deste grupo as pectinas, os ácidos pécticos, as protopectinas e gomas (Dharmadhikari, 1994; Mendes, 2008).

A compreensão da composição química da uva é essencial para o processo de vinificação, com o intuito de produzir vinhos de melhor qualidade (Dharmadhikari, 1994).

2.2.2. Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica é a principal atividade pela qual as leveduras contribuem positivamente para o corpo, aroma, sabor, cor e viscosidade dos vinhos (Fleet, 2003; Fleet 2008; Teixeira, 2011). É geralmente realizada por estirpes de *Saccharomyces cerevisiae*, apesar do fato das estirpes desta espécie não serem prevalentes em uvas (Fleet, 2003).

Sabe-se que diferentes microrganismos desempenham um papel importante na composição química do vinho, no entanto, as leveduras têm uma influência dominante, uma

vez que durante a fermentação metabolizam os açúcares e outros componentes provenientes da composição da uva em etanol, dióxido de carbono e centenas de produtos secundários finais como por exemplo, ácidos orgânicos, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, aminas e compostos voláteis de enxofre, entre outros (Fleet 2003; Fleet, 2008; Teixeira 2011).

O etanol é o constituinte mais abundante sendo o suporte do aroma e do “bouquet” do vinho (Oliveira, 2006).

Em termos quantitativos os compostos voláteis produzidos durante a fermentação pelas leveduras representam a fração mais importante do aroma dos vinhos (Teixeira, 2011). Dentro deste grupo de compostos destacam-se os ésteres, sendo os mais produzidos o acetato de etilo (aroma tipo solvente), acetato de isoamilo (aroma a banana), hexanoato e octanoato de etilo (aroma tipo pêra), acetato de 2-feniletilo (aroma frutado), butanoato de etilo (aroma floral ou frutado), entre outros (Oliveira, 2006; Teixeira, 2011). O ácido acético é o ácido orgânico de cadeia alifática mais importante, produzido durante a fermentação alcoólica. Dentro desta classe, os compostos mais importantes encontrados nos vinhos são o fórmico, propiônico (C3), butanóico (C4), valérico (C5), hexanóico (C6), octanóico (C8), decanóico (C10), e dodecanóico (C12). Em relação aos álcoois, alguns exemplos encontrados no vinho são o glicerol, arabitol, manitol, metanol, 1-propanol, 1-butanol e hexanol. A maior parte destes álcoois são produzidos durante a fermentação alcoólica. O composto carbonílico que existe em maior concentração no vinho é o etanal, embora a maior parte deste tipo de compostos exista em quantidades vestigiais (benzaldeído, fenilacetaldéido, diacetilo, glioxal, metilglioxal, 2-furfural, 5-metil-2-furfural, 5-hidroxi-metil-2-furfural, entre outros) (Oliveira, 2006).

A fermentação do mosto das uvas é um ecossistema complexo que envolve a interação de atividades bioquímicas entre diferentes espécies e estirpes de leveduras, sendo cada vez mais importante para os produtores de vinho o conhecimento das respectivas populações e suas características, dado que permite alguma previsão das características do produto final (Fleet 2003; Fleet 2008; Teixeira, 2011).

Após este processo de vinificação, o vinho sofre maturação, seguido de filtração, engarrafamento e armazenamento (Robertson, 2012).

2.2.3. Envelhecimento do vinho

Durante a maturação (em garrafa) ou envelhecimento, ocorrem vários processos que influenciam as substâncias voláteis e o bouquet (Rapp, 1998; Pisarnitskii, 2001), através de alterações no sabor do vinho, conferindo-lhe o seu aroma característico (Robertson, 2012).

É necessário alguma oxidação durante o seu envelhecimento para se atingir a qualidade ideal do vinho (Bueno *et al.*, 2016). Uma oxidação controlada pode ter efeitos positivos no vinho como a estabilização da sua cor e a diminuição da sua adstringência (Bueno *et al.*, 2016). Porém, esta pode também originar alterações negativas na composição e propriedades sensoriais, como o desenvolvimento de cores amarelas e castanhas e a deterioração do aroma do mesmo (Oliveira *et al.*, 2011; Bueno *et al.*, 2016).

A principal reação de deterioração nos vinhos brancos é causada maioritariamente pela oxidação, podendo conduzir ao escurecimento da cor, a perda de aroma e sabor varietal e ao desenvolvimento do amargor (Li *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011; Makhotkina e Kilmartin, 2013). Nos vinhos tintos, o processo de oxidação é mais complexo, uma vez que envolve reações de polimerização por condensação entre taninos e antocianinas, resultando na perda de pigmentação e mudanças de cor (Oliveira *et al.*, 2011; Robertson, 2012).

2.2.4. Impacto dos vedantes na qualidade do vinho

Os fechos utilizados na vedação das garrafas são considerados uns dos fatores que mais influenciam a qualidade do vinho após engarrafamento, através das suas propriedades de barreira ao oxigénio (Lopes *et al.*, 2007; Lopes *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2011). Porém, existem outros fatores citados na literatura que também contribuem para o desenvolvimento do vinho em garrafa, nomeadamente oxigenação durante a produção do vinho, condições da linha de engarrafamento, volume e composição do gás do espaço vazio, condições de armazenamento (temperatura, luz, humidade, posição da garrafa, etc.) e composição do próprio vinho (Lopes *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2011).

De acordo com Silva *et al.* (2011), a transferência de oxigénio pode ocorrer por três vias principais: (1) difusão através dos poros do fecho; (2) difusão na interface entre o fecho e a garrafa; (3) oxigénio expelido do fecho como consequência da compressão ocorrida durante o engarrafamento (Figura 8).

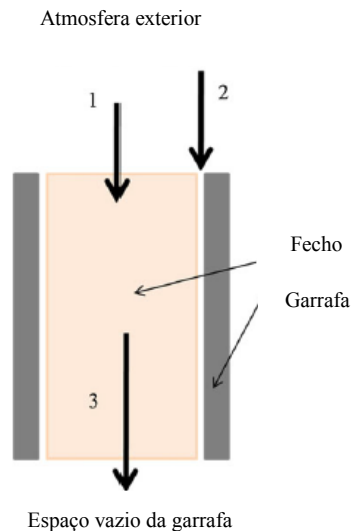


Figura 8 -Principais entradas de oxigénio na garrafa durante o envelhecimento do vinho (Fonte: Silva *et al.*, 2011).

Quando a rolha de cortiça natural é comprimida no gargalo imediatamente após o engarrafamento, a pressão de ar contida nas células da cortiça varia de 0,6 a 0,9 MPa. O ar à pressão atmosférica (0,101 MPa) é incapaz de entrar nas garrafas através da rolha ou na interface entre a rolha e o gargalo. Contudo, a elevada pressão interna da rolha pode forçar o ar contido nas células de cortiça a difundir-se para o espaço vazio da garrafa, diminuindo desta forma a pressão interna e permitindo a passagem de oxigénio através da rolha e na interface entre a rolha e a garrafa (Lopes *et al.*, 2007).

Apesar de a principal função de um vedante de garrafa de vinho ser garantir uma boa vedação, a fim de evitar vazamentos e qualquer deterioração organoléptica no vinho durante o seu armazenamento, a rolha de cortiça natural não é um material inerte (Lopes *et al.*, 2007; Lopes *et al.*, 2009; Karbowski *et al.*, 2010; Azevedo *et al.*, 2014), ao contrário da garrafa de vidro (Karbowski *et al.*, 2010), e a sua permeabilidade permite, nos primeiros meses em garrafa, a transferência de pequenas quantidades de oxigénio através da rolha que, por sua vez, permite que o vinho envelheça gradualmente (Lopes *et al.*, 2007; Lopes *et al.*, 2009; Karbowski *et al.*, 2010; Azevedo *et al.*, 2014). Na sua constituição existem uns poros, denominados lenticelas, que são responsáveis pela porosidade da cortiça, permitindo assim a passagem de oxigénio (Silva *et al.*, 2011).

Também já foi reportado que a principal via de entrada de oxigénio nas garrafas de vinho vedadas com cortiça natural ocorre através da interface entre a rolha e a garrafa (Lagorce-Tachon *et al.*, 2016).

Apesar de existir alguma controvérsia entre diferentes autores em questão à principal via de entrada de oxigénio na garrafa durante o armazenamento (Lopes *et al.*, 2007; Lagorce-Tachon *et al.*, 2016), sabe-se que muita ou pouca exposição ao oxigénio pode causar oxidação ou redução, o que altera o aroma do vinho (Azevedo *et al.*, 2014).

Desta forma, é importante compreender e controlar as reações de oxidação-redução, uma vez que podem prejudicar a qualidade do vinho (Oliveira *et al.*, 2011; Bueno *et al.*, 2016).

2.3. Processo de Oxidação

A oxidação que ocorre no vinho é um processo complexo que envolve várias espécies químicas como metais, compostos fenólicos, aminoácidos e açúcares (Danilewicz, 2003; Li *et al.*, 2007; Karbowski *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2011; Makhotkina e Kilmartin, 2013; Carrascón *et al.*, 2017). Através de diversos mecanismos químicos, é responsável pelo desenvolvimento da cor, sabor e aroma do vinho e dependente de vários parâmetros como a temperatura e o pH (Danilewicz, 2003; Li *et al.*, 2007; Karbowski *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2011; Makhotkina e Kilmartin, 2013; Carrascón *et al.*, 2017).

A reações de oxidação podem se dividir em enzimáticas e não-enzimáticas. A oxidação enzimática ocorre maioritariamente no mosto e a oxidação não enzimática, também conhecida como oxidação química do vinho, prevalece no vinho após fermentação e inicia-se pela oxidação dos compostos fenólicos na presença de oxigénio (Li *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011).

2.3.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são os substratos primários que iniciam as reações de oxidação no vinho, catalisadas por iões de metais de transição, como o ferro e o cobre, de onde resultam a formação de quinonas (Danilewicz, 2003; Karbowski *et al.*, 2009; Makhotkina e Kilmartin, 2013; Carrascón *et al.*, 2017).

Estes compostos, presentes na constituição do próprio vinho e no mosto da uva, destacam-se pela sua relevância no processo de oxidação que ocorre durante a produção de vinho e durante o seu envelhecimento, uma vez que são facilmente oxidados (Li *et al.*, 2007; Karbowski *et al.*, 2009; Makhotkina e Kilmartin, 2013). Os vinhos tintos apresentam uma maior concentração de polifenóis (1 a 5 g/L) em relação aos vinhos brancos (0,2 a 0,5 g/L) (Oliveira *et al.*, 2011).

Desempenham um papel fundamental na capacidade antioxidante do vinho (Oliveira, 2006; Karbowskiak *et al.*, 2009; Makhotkina e Kilmartin, 2013) devido aos seus elevados potenciais redox que permitem que estes compostos sejam bons agentes redutores, dadores de hidrogénio e com capacidade de reagir com espécies reativas de oxigénio e de azoto (Oliveira, 2006).

2.3.2. Oxidação não-enzimática do vinho

Na oxidação não-enzimática do vinho o oxigénio não reage diretamente com os compostos fenólicos sem a presença de iões de metais de transição. Após o oxigénio se dissolver no vinho, ocorre uma cascata de reações oxidativas catalisadas por iões metálicos, principalmente o Fe^{2+} e o Cu^{2+} e, os compostos fenólicos são oxidados. Durante este processo, são formadas espécies altamente reativas como quinonas e peróxido de hidrogénio (H_2O_2) (Danilewicz, 2003; Oliveira, 2006; Li *et al.*, 2007; Carrascón *et al.*, 2017).

O mecanismo de oxidação inicia-se com a ativação do oxigénio dissolvido no vinho, mediado pelo ciclo redox de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ e $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$, resultando na formação do radical hidroperóxido ($\text{HO}_2\bullet$). Posteriormente, o radical formado reage com o grupo catecol de fenóis, que origina sequencialmente semiquinonas e quinonas, enquanto que o oxigénio é reduzido a H_2O_2 (Figura 9). As quinonas formadas a partir da oxidação de polifenóis são compostos instáveis e podem sofrer reações adicionais (Danilewicz, 2003; Li *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011; Carrascón *et al.*, 2017). É proposto que o processo de polimerização seja acelerado devido à oxidação destes produtos (Oliveira *et al.*, 2011). O peróxido de hidrogénio é depois reduzido pelo ião ferroso (Fe^{2+}), através da reação de Fenton (Figura 10), a radical hidroxilo ($\text{HO}\bullet$), uma espécie reativa de oxigénio, capaz de oxidar rapidamente a maioria das moléculas orgânicas presentes no vinho como etanol, ácido tartárico, glicerol, açúcares e ácidos orgânicos (Danilewicz, 2003; Oliveira, 2006; Li *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011; Danilewicz, 2016; Carrascón *et al.*, 2017).

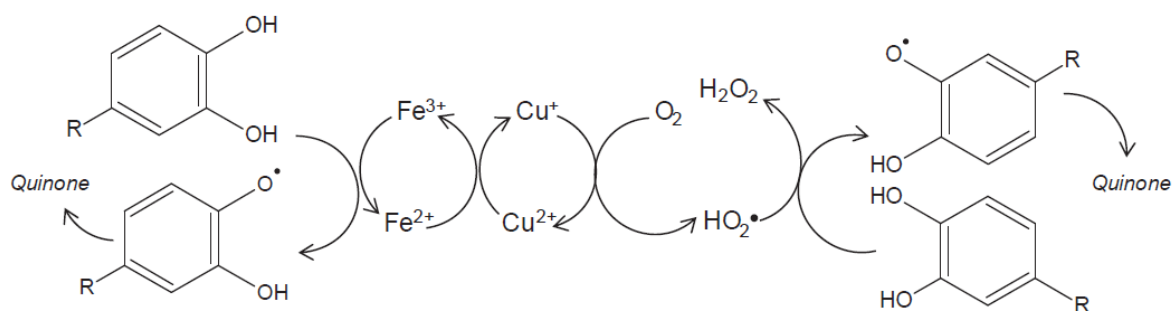


Figura 9- Esquematização da ação catalítica de íons de ferro e cobre na oxidação de catecol em quinonas e peróxido de hidrogénio (Fonte: Oliveira *et al.*, 2011).



Figura 10- Reação de Fenton (Fonte: Oliveira *et al.*, 2011).

Estas reações vão modificar a composição química do vinho, afetando principalmente a composição fenólica e aromática de vinhos brancos (Li *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011; Carrascón *et al.*, 2017). Geralmente ocorrem lentamente em meios ácidos, especialmente se estiverem presentes íons de elementos metálicos (Li *et al.*, 2007).

2.3.3. Papel do ferro e do cobre

O ferro (Fe) e o cobre (Cu) são metais de transição que estão amplamente presentes no vinho sob a forma de íon. São provenientes de contaminações relacionadas com os equipamentos de operação utilizados no solo e durante o processo de vinificação do vinho. O aumento do uso de unidades de aço inoxidável permitiu reduzir os níveis destes metais no vinho, sendo que os vinhos típicos apresentam níveis médios de ferro e cobre de aproximadamente 0-5 mg/L e 0,1-0,3 mg/L. No entanto, mesmo apresentando uma baixa concentração, podem conduzir à deterioração oxidativa do vinho (Li *et al.*, 2007; Rousseva, 2014).

Estes elementos têm sido estudados de forma minuciosa e têm vindo a demonstrar que podem influenciar o vinho através da formação de turbidez e/ou pela indução de algumas

alterações indesejáveis de aroma, cor e sabor através da oxidação-redução de aromas (Li *et al.*, 2007; Rouseva, 2014).

São considerados os principais catalisadores da oxidação não-enzimática do vinho, desempenhando um papel fundamental na iniciação da primeira reação (Danilewicz, 2003; Li *et al.*, 2007; Rouseva, 2014). Após exposição ao oxigênio, o íon ferroso (Fe^{2+}) é oxidado ao estado férrico (Fe^{3+}), um oxidante mais forte que o oxigênio, que oxida os constituintes do vinho, retornado depois ao estado ferroso. Por sua vez, o cobre que está presente principalmente na forma oxidada (Cu^{2+}), acelera a oxidação do íon Fe^{2+} , promovendo assim a capacidade catalisadora do ferro no vinho (Danilewicz, 2003; Li *et al.*, 2007; Danilewicz, 2016).

A ação catalítica destes íons metálicos durante as reações de oxidação do vinho pode conduzir a um escurecimento no vinho durante o seu envelhecimento (Li *et al.*, 2007).

2.3.4. Influência dos Compostos Carbonílicos (aldeídos e cetonas) na qualidade sensorial do vinho

Para além da reação química que envolve os compostos fenólicos presentes no vinho, as principais reações de oxidação que ocorrem durante o aquecimento do suco da uva ou durante o armazenamento são as reações de caramelização e de Maillard, ambas dependentes da temperatura (Oliveira *et al.*, 2011). As reações de Maillard envolvem a condensação de açúcares redutores com aminoácidos e proteínas, a temperaturas superiores a 50°C e a um pH ótimo entre 4 e 7, obtendo-se produtos que dão sabor, cor e aroma (Oliveira, 2006; Oliveira *et al.*, 2011).

A reação de Strecker é conhecida como sendo uma fonte eficiente de aldeídos com aroma ativo (Hofmann e Schieberle, 2000). São formados pela degradação de Strecker de α -aminoácidos ao reagirem com compostos α -dicarbonílicos (grupo funcional $-\text{CO}$), derivados da degradação de açúcar (Hofmann e Schieberle, 2000; Oliveira *et al.*, 2011). O aminoácido na presença de compostos α -dicarbonílicos é descarboxilado e desaminado, formando um aldeído designado por aldeído de Strecker (Oliveira *et al.*, 2011). Para além destes aldeídos, os correspondentes ácidos com odor ativo são formados no decorrer destas reações (Hofmann e Schieberle, 2000).

Estudos recentes mostraram que outros compostos dicarbonílicos, como *o*-quinonas formadas durante o processo de oxidação de polifenóis e lípidos, também podem participar na degradação de Strecker e produzir compostos de sabor (Oliveira *et al.*, 2011; Monforte *et al.*,

2017). A formação destes compostos no vinho deve-se principalmente à presença de metais e oxigênio durante a oxidação fenólica (Monforte *et al.*, 2017).

A qualidade do vinho pode ser prejudicada por odores e sabores indesejáveis, que conferem diferentes notas de aroma à bebida, se presentes em concentrações elevadas (Oliveira *et al.*, 2011; Bueno *et al.*, 2016). O aroma típico de vinhos brancos oxidados tem sido descrito como parecido a “mel”, “maderizado”, “feno” e “ração” (Ferreira, 2003; Oliveira *et al.*, 2011). Os aldeídos de Strecker estão relacionados com a percepção de qualidade quando presentes em vinhos brancos. A formação destes compostos é a principal causa de deterioração do aroma do vinho, sendo os mais comuns o fenilacetaldéido e o metional (Oliveira *et al.*, 2011; Bueno *et al.*, 2016). O fenilacetaldéido é um aldeído de Strecker particularmente importante pela sua contribuição de notas de aroma a “mel” (Ferreira, 2003; Oliveira *et al.*, 2011; Monforte *et al.*, 2017) associadas à oxidação prematura (Monforte *et al.*, 2017) e o metional é responsável por notas de aroma a “batata cozida” (Ferreira, 2003; Oliveira *et al.*, 2011). Porém, estes compostos também podem ser formados pela oxidação direta do respetivo álcool (Oliveira *et al.*, 2011; Monforte *et al.*, 2017). Apesar da via de formação destes dois compostos ainda não estar totalmente esclarecida, alguns autores sugerem que o mecanismo de Strecker é a principal via de formação do metional (Oliveira *et al.*, 2011). O composto 3-metil-butanal está associado ao aroma a “malte” e, segundo a literatura, é um dos produtos da degradação de Strecker entre o aminoácido leucina e os compostos dicarbonílicos presentes no vinho (Hofmann e Schieberle, 2000; Azevêdo *et al.*, 2007). Este aldeído foi identificado em vinhos, em concentrações que variaram entre 4,45 a 13,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, levando a concluir que a sua presença pode afetar significativamente o aroma do vinho, uma vez que o seu limite de percepção é de apenas 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Se o aminoácido envolvido na degradação de Strecker for a valina, é formado o aldeído 2-metil-propanal, um indicador de aroma a “queijo desagradável”. Por sua vez, o 2-metil-butanal é o composto resultante da interação entre isoleucina e os compostos dicarbonílicos do vinho, sendo um dos responsáveis pelo aroma “frutal” desta bebida. No vinho, o benzaldeído está associado ao aroma de “amêndoa amarga” e ao grupo dos compostos formadores do aroma das cerejas. Pode estar presente tanto em vinhos tintos quanto em vinhos brancos, embora em pequenas concentrações (0,08 a 0,23 mg L^{-1}). Alguns autores citam a importância do benzaldeído como marcador químico utilizado para diferenciação entre variedades de uvas viníferas. Nos vinhos, a sua presença pode estar relacionada também ao odor de “vegetal cozido” ou à característica “alcoólica” do odor (Azevêdo *et al.*, 2007).

O furfural e o 5-metil-furfural são aldeídos furânicos extraídos da madeira ou provenientes da degradação térmica de açúcares (Oliveira, 2006; Azevêdo *et al.*, 2007). O aumento da concentração do furfural está relacionado com as mudanças no aroma do alimento e/ou bebida. O furfural presente no vinho pode ser proveniente também das rolhas de cortiça, dado que já foi identificado entre os 50 compostos voláteis naturais formadores do aroma das cortiças que não contêm defeitos de contaminação microbiana. O 5-metil-furfural está associado ao aroma a “madeira” presente em alguns vinhos. Foram encontrados teores de 0,10 a 51,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,66 $\mu\text{g L}^{-1}$ deste aldeído em vinhos tintos e brancos, respectivamente. No entanto, não apresenta um impacto tão significativo no aroma do vinho em relação ao aldeído furfural (Azevêdo *et al.*, 2007).

Os principais compostos dicarbonilos presentes no vinho são o glioxal, metilglioxal, e diacetil (Flamini *et al.*, 2002; Ferreira *et al.*, 2007). Nos vinhos brancos, as concentrações destes compostos são menores em relação a Vinhos do Porto e da Madeira (Ferreira *et al.*, 2007). O diacetil ou 2-3-Butanodiona é uma dicetona que, se presente em concentrações superiores a 2,00-4,00 mg L^{-1} , pode conferir um aroma a “manteiga” ao vinho (Azevêdo *et al.*, 2007). O glioxal e o metilglioxal são produzidos por vários microrganismos durante a fermentação alcoólica. Estes compostos são importantes para o caráter aromático do vinho devido aos seus limiares de detecção de odor baixos e estão associados aos processos de escurecimento devido às reações com os aminoácidos (Flamini *et al.*, 2002).

2.3.5. Antioxidantes no vinho: Dióxido de Enxofre

O dióxido de enxofre (SO_2) é utilizado na produção do vinho para desempenhar funções como antioxidante e desinfetante (Sarudi & Kelemen, 1997; Oliveira *et al.*, 2011). Especialmente em vinhos brancos, a sua adição tem como objetivo proteger os mostos e os vinhos contra o processo de oxidação. Atua como um inibidor da oxidação enzimática e química, demonstrando um efeito positivo na diminuição da taxa de escurecimento (Karbowski *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011; Makhotkina e Kilmartin, 2013). Para além da sua função de antioxidante, também regula o crescimento de leveduras nocivas e bactérias. Possui ainda a capacidade de participar em reações de adição com compostos carbonilos para formar adutos de bissulfito não voláteis, prevenindo desta forma propriedades sensoriais desagradáveis (Danilewicz, 2003; Oliveira *et al.*, 2011).

Este composto químico é altamente solúvel em água e etanol, comparativamente com o oxigénio e outros gases, e bastante volátil, apresentando um coeficiente de solubilidade de

$1,2 \times 10^{-2}$ (Karbowski *et al.*, 2010). As concentrações de SO_2 adicionadas ao vinho geralmente variam entre 50 a 200 mg.L^{-1} , sendo de extrema importância para os vinhos doces (Karbowski *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011).

O SO_2 pode encontrar-se no vinho em dois estados: livre e combinado. No vinho, existe um equilíbrio entre a molécula e as formas iônicas do dióxido de enxofre. No pH do vinho, o dióxido de enxofre pode existir na forma molecular, SO_2 , embora seja mais comum estar presente sob a forma iônica de íon bissulfito, HSO_3^- ($\text{SO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{SO}_3^-$, $\text{pK}_a=1,91$). O íon sulfito, SO_3^{2-} , apenas aparece a um pH elevado ($\text{pK}_a=6,91$), estando deste modo presente a concentrações muito baixas de pH do vinho. Estas duas frações de SO_2 presentes no vinho (SO_2 e HSO_3^-) são referidas como o SO_2 livre (Lopes, 2014; Karbowski *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011). Na matriz do vinho, o dióxido de enxofre pode ligar-se a vários constituintes do vinho, como acetaldeído, antocianinas, ácido pirúvico, ácido glutárico, glicose ou certos compostos fenólicos. Alguns agentes ligantes, como aldeídos, quinonas ou cetoácidos, podem derivar de reações de oxidação (Karbowski *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011). Esta ligação do dióxido de enxofre principalmente a compostos insaturados é referida como o SO_2 combinado (Lopes, 2014; Karbowski *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011). O SO_2 livre e o SO_2 combinado dão origem ao SO_2 total (Lopes, 2014).

Apenas o SO_2 livre é ativo contra a oxidação, embora para uma concentração abaixo de 10 mg.L^{-1} de SO_2 livre no vinho, não se verifica um efeito eficiente na prevenção da oxidação (Karbowski *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011). O SO_2 atua contra a oxidação ao reagir com o oxigénio na forma reduzida, H_2O_2 , formado durante a oxidação de polifenóis que, por sua vez, pode inibir a formação de aldeídos ao competir pelo mesmo. O SO_2 reage com o H_2O_2 , reduzindo-o a água (H_2O) e é oxidado a sulfato (SO_4^{2-}). Também desempenha um papel importante na redução de quinonas, formadas durante o processo de oxidação, de volta à sua forma fenólica (Danilewicz, 2003; Karbowski *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011; Makhotkina e Kilmartin, 2013; Carrascón *et al.*, 2017).

2.4. Objetivo

O objetivo geral do trabalho foi analisar o perfil interno de gargalos de garrafas e avaliar o impacto desta variável na oxidação do vinho.

De forma a alcançar o objetivo pretendido, efetuaram-se as seguintes etapas:

- 1) Determinação da variabilidade do perfil interno de gargalos entre quatro modelos de garrafa através de medições ao diâmetro interno dos mesmos;
- 2) Avaliação do impacto do perfil interno de gargalos correspondentes aos quatro modelos de garrafa na oxidação do vinho através de um envelhecimento forçado em laboratório e posterior caracterização analítica.

No primeiro estudo, tendo em conta a complexidade do processo de produção de garrafas de vidro, poderá verificar-se uma grande heterogeneidade entre os modelos. Por sua vez, no segundo estudo, pela relevância que o fecho tem na qualidade do vinho, poder-se-á observar um impacto diferencial desta heterogeneidade nas propriedades do vinho.

3. Materiais e Métodos

3.1. Determinação da variabilidade do perfil interno de gargalos de garrafas

3.1.1. Amostragem

Para a determinação da variabilidade do perfil interno de gargalos de garrafas foi selecionada uma categoria de garrafa que apresenta quatro modelos distintos (A, B, C e D) embora com especificações técnicas iguais, utilizadas pela empresa no engarrafamento de Vinho do Porto.

Ambos os modelos de garrafas são fornecidos à Symington pela BA Vidro (Fábrica de Vidros Barbosa & Almeida, SA). De acordo com a ficha de especificação dos produtos, as garrafas têm capacidade nominal de 75 cl, um nível de enchimento de 77 mm e um diâmetro interno da marisa de $18 \pm 0,5$ mm.

De cada modelo de garrafa acima mencionado, foram analisadas 50 garrafas por ensaio, de forma aleatória, perfazendo uma amostragem total de 200 garrafas analisadas (Figura 11).

$$4 \text{ modelos de garrafas} \times 50 \text{ garrafas por ensaio} = 200 \text{ garrafas analisadas}$$

Amostragem por ensaio *Amostragem Total*

Figura 11 - Esquema representativo da amostragem utilizada no estudo.

3.1.2. Equipamento utilizado

O equipamento utilizado no estudo foi o PerfiLab - fornecido pela EGITRON, modelo PRF-2014-01 com o ano de fabrico de 2015 e N° de série 202. Este equipamento tem acoplado um comparador de interiores com aplicação na medição dos diâmetros internos de gargalos de garrafas, uma base rotativa de apoio para a colocação das garrafas e um travão de deslocamento vertical para ajuste do aparelho de medida na garrafa.

3.1.3. Metodologia aplicada

Para a execução do ensaio de medição do diâmetro interno de gargalos de garrafas utilizou-se o método interno da Symington. Numa primeira fase, as garrafas representativas de um modelo foram agrupadas de acordo com o seu número de molde. De seguida, as garrafas foram posicionadas com a costura virada para 0° na base rotativa de apoio do equipamento e ajustadas no aparelho de medida, de forma que as hastes do aparelho fiquem inseridas no interior dos gargalos a cerca de 2 mm de profundidade da marisa das garrafas, evitando a zona de rebordo da mesma. Após acerto do diâmetro máximo de leitura do comparador e respectiva configuração do ensaio, executaram-se as medições do diâmetro interno de gargalos das garrafas até uma profundidade de 50 mm. O intervalo entre leituras selecionado foi de 2 mm. A seleção do intervalo de medição teve em conta o comprimento da rolha usada nas garrafas (49x24 mm), o que faz com que o ponto de leitura máximo seja efetuado na zona de vedação da mesma. Executou-se uma segunda medição, posicionando as garrafas na base rotativa de apoio a 90° e ajustando novamente o diâmetro máximo de leitura. Replicou-se o procedimento mencionado com as garrafas representativas dos restantes modelos Ou seja, foram executados quatro ensaios correspondentes aos quatro modelos de garrafa em estudo. Os valores obtidos nos ensaios foram gravados em impressão de relatórios através do software do equipamento.

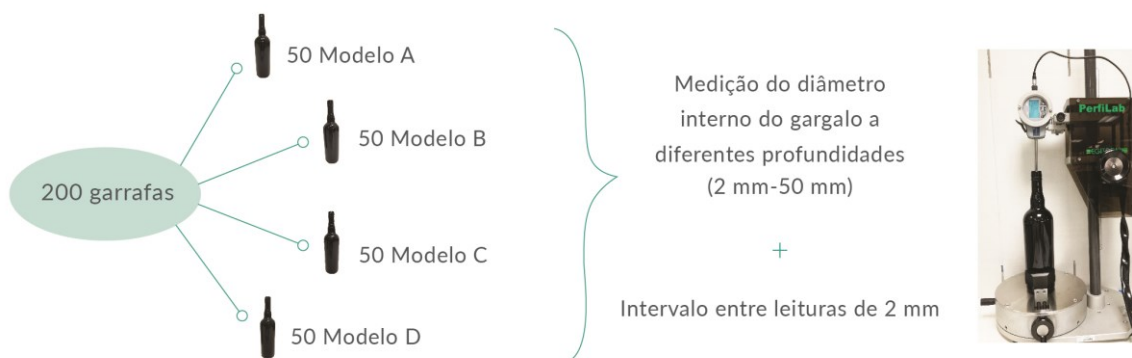


Figura 12- Esquema representativo do estudo da variabilidade do perfil interno de gargalos de garrafas.

3.1.4. Análise de Dados

Os valores obtidos em cada ensaio foram posteriormente tratados e analisados usando o software IBM SPSS Statistics 20 para execução da análise de variância (ANOVA) ($\alpha = .05$) e funções específicas do MATLAB (R2014b) para a realização da Análise de Componentes Principais (ACP), a fim de determinar se há diferenças estatisticamente significativas entre a média do diâmetro interno de gargalos de garrafas de diferentes modelos e avaliar a distribuição dos dados e quais as variáveis responsáveis pela variabilidade dos mesmos, respetivamente. Nos casos em que se obteve um F significativo ($P < .05$), a significância existente entre médias foi avaliada pelo teste de Tuckey.

3.2. Avaliação do impacto do perfil interno de gargalos de garrafas na oxidação do vinho

3.2.1. Amostragem

De forma a avaliar o impacto do perfil interno de gargalos de garrafas na oxidação do vinho, utilizou-se um vinho de mesa branco, nomeadamente o Vinho Branco DOC Douro da marca Contemporál com 12,5% vol., uma vez que os vinhos brancos são particularmente susceptíveis às reações de oxidação não-enzimática (Li *et al.*, 2007; Makhotkina e Kilmartin, 2013). As garrafas utilizadas nesta parte do trabalho foram cedidas gentilmente pela Symington e correspondem a duas amostras de cada modelo de garrafa: A, B, C e D, utilizado no primeiro estudo, perfazendo um total de oito amostras. Para a vedação das mesmas usou-se rolhas de cortiça natural com o seguinte calibre: 45×24 mm, cedidas também gentilmente pela Symington.

3.2.2. Protocolo de envelhecimento forçado de vinho

Os reagentes químicos utilizados foram obtidos pela Merck (Darmstadt, Germany), nomeadamente o composto Sulfato de Ferro (II) hepta-hidratado ($\text{Fe}(\text{2SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$) a 99,5% de pureza e o composto Sulfato de Cobre (II) penta-hidratado ($\text{Cu}(\text{2SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$) a 99% de pureza.

Foi simulado em laboratório um envelhecimento forçado de vinho branco sujeito à temperatura de 40°C e com adição de ferro e cobre com o propósito de estimular a entrada de

oxigénio e aumentar a velocidade de reação de oxidação não-enzimática no vinho (Danilewicz, 2003; Li *et al.*, 2007; Danilewicz, 2016). Para tal, foram preparadas duas soluções de Fe^{2+} e Cu^{2+} sob a forma de $\text{Fe}(\text{2SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ e $\text{Cu}(\text{2SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$ com concentrações de 89,2 mM e 0,6 mM, respetivamente. Estas soluções foram adicionadas a um volume de seis litros de vinho branco, sendo posteriormente divididos em oito partes iguais (750 mL) e distribuídos pelas amostras de garrafas de forma contínua para diminuir a variabilidade. Após o engarrafamento manual, estas foram vedadas com o mesmo tipo de rolha com o auxílio de um arrolhador. Posteriormente, procedeu-se à identificação e armazenamento numa estufa a 40°C, com o intuito de acelerar o consumo de oxigénio (Ferreira, 2003), durante 21 dias (Figura 14). Durante a colocação das amostras na estufa, uma das réplicas da garrafa correspondente ao modelo C partiu-se, tendo-se prosseguido o estudo com apenas sete amostras (A1_B, A2_B, A3_C, A4_D, A5_D, A6_A e A7_A).

De forma a avaliar as contribuições do processo de envelhecimento forçado em cada uma das amostras, bem como da adição de metais, recorreu-se a uma amostra de vinho testemunho (correspondente ao t0), isenta de adições ou alterações.

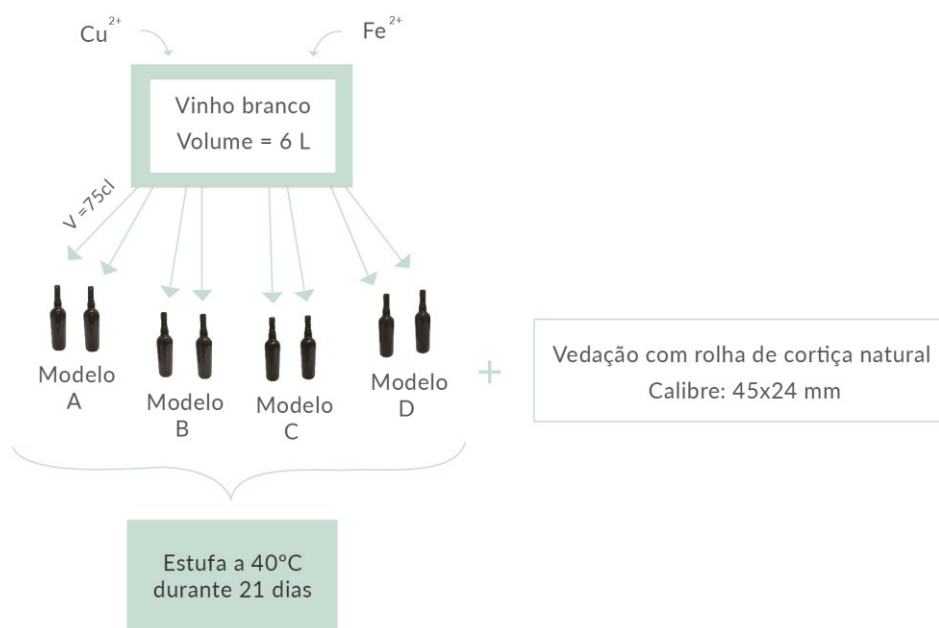


Figura 13- Esquema representativo do protocolo de envelhecimento forçado de vinho branco em laboratório.

3.2.3. Parâmetros químicos determinados nas amostras de vinho

I. pH

As medições de pH foram efetuadas a 19°C em todas as amostras de vinho, utilizando o medidor pH-Meter BASIC 20 da marca Crison, devidamente aferido e calibrado, onde o eletrodo do pH é mergulhado na amostra de vinho em agitação. O valor do pH é medido directamente no visor do aparelho. Os ensaios foram feitos em triplicado.

II. Dióxido de Enxofre (SO₂)

A concentração de dióxido de enxofre livre e total foi determinada de acordo com o método de Ripper modificado (Garcia e Barros, 1988). Este método baseia-se na reação redox em meio ácido em que o dióxido de enxofre, na forma de ião bissulfito, reage com o iodo na presença de amido (titulação iodométrica).

Livre

Executou-se uma reta de calibração, utilizando para o efeito sete padrões preparados a partir de uma solução-mãe de metabissulfito de sódio (Na₂S₂O₅, a 98% de pureza) com solução modelo de vinho (12% etanol, 4g/L ácido tartárico a pH ajustado a 3,6). A preparação dos padrões e das amostras foi feita da seguinte forma, num balão volumétrico de 50 mL dilui-se 10 mL da amostra de vinho/padrão em água destilada e transferiu-se a solução para um Erlenmeyer de 250 mL. De seguida, adicionou-se em primeiro lugar 5 mL de solução de cozimento de amido e 3 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 1:10. Titulou-se a mistura com solução de iodo (0,00256M) até se observar uma coloração azul intensa. Os ensaios foram feitos em triplicado e os resultados da concentração foram expressos em mg/L.

Total

Num Erlenmeyer de 250 ml, adicionou-se 10 mL da amostra de vinho/padrão, 10 mL de solução de hidróxido de potássio (KOH a 1,0 M) para promover a hidrólise alcalina do SO₂ combinado e 10 mL de água destilada. Tapou-se o matraz com papel de alumínio, para não haver transferência de oxigénio, e aguardou-se 10 minutos. Posteriormente adicionou-se 6 mL

de H₂SO₄ a 1:4 e 3 mL de solução de cozimento de amido. Titulou-se a solução usando a solução de iodo (0,00256M) como titulante até a solução adquirir uma cor azul intensa. Os ensaios foram feitos em triplicado e os resultados da concentração foram expressos em mg/L.

III. Potencial redox

A partir da voltametria cíclica foi possível determinar o perfil redox de cada amostra. Para o seguinte efeito, colocou-se a amostra numa célula eletroquímica à qual se acoplou três eléctrodos diferentes, o de trabalho (carbono), um de filamento de platina e um eléctrodo de referência Ag/AgCl fornecidos pela Metrohm Autolab. O sistema foi colocado numa gaiola de Faraday da Metrohm Autolab para minimização de ruído e procedeu-se à aquisição de voltamogramas cíclicos através do software NOVA 1.3 integrado no equipamento potenciostato/galvanostato Type III da Metrohm Autolab.

Para a preparação das amostras diluiu-se 1 mL de vinho em 15 mL de solução modelo de vinho (12% etanol, 4 g/L ácido tartárico a pH ajustado a 3,6), isto é, diluiu-se o vinho branco 16 vezes, o que vai de encontro com o estudo de Kilmartin *et al.*, (2001). Os ensaios foram feitos em triplicado com ciclos de limpeza ao arranque e entre amostras com 15 mL de hidróxido de sódio (NaOH da marca Merck e com 99% de pureza) a 0,1 M.

IV. Caracterização de Compostos Carbonílicos por HS-SPME/GC-MS

A caracterização de compostos carbonílicos (aldeídos e cetonas) presentes no vinho foi efetuada pela técnica de microextração em fase sólida através do headspace (HS-SPME) e sistema de cromatografia gasosa acoplado com espectrometria de massa (GC-MS). Em vials de 10 mL adicionou-se 2 mL da amostra de vinho, de seguida, adicionou-se à amostra 50 µL de padrão interno (heptaldeído a 95% de pureza da Sigma-Aldrich) e 200 µL do agente de derivatização O-(2,3,4,5,6 Pentafluorobenzyl)hydroxylamine (PFBHA a 10 g/L da Sigma-Aldrich). Durante 5 minutos a amostra foi colocada em banho de glicerina a 45°C e com agitação de 300 rpm, tendo sofrido uma reação de derivatização. Inseriu-se a fibra no vial e exposta ao headspace (o espaço acima da amostra) durante 20 minutos para extração dos compostos a analisar, sendo posteriormente colocada no injetor do equipamento GC-MS Varian Saturn 2000 durante 5 minutos para que haja separação dos compostos na coluna de cromatografia gasosa. Cada corrida do cromatograma demorou cerca de 60 minutos. Após a separação dos compostos passa-se à etapa de espectroscopia de massa para identificação dos

compostos previamente separados. Os compostos foram identificados comparando os tempos de retenção e espectros de massa obtidos de uma amostra contendo padrões puros e autênticos. O método de calibração interna foi utilizado para quantificação dos compostos identificados e as concentrações foram expressas como equivalentes ao padrão interno. A análise foi feita em duplicado.

V. Caracterização de Compostos Voláteis por HS-SPME/GC-MS

A caracterização de compostos voláteis presentes no vinho foi efetuada pela técnica de microextração em fase sólida através do headspace (HS-SPME) e sistema de cromatografia gasosa acoplado com espectrometria de massa (GC-MS). Em viais de 20 mL adicionou-se 5 mL de vinho e 20 µL de padrão interno (3-octanol a 50 mg/L da marca Sigma-Aldrich e com 99% de pureza) e colocou-se no equipamento de GC-MS para a extração, separação e detecção dos compostos a analisar. Para a microextração foi utilizada a fibra divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) com espessura dos revestimentos de 50/30 µm da marca Supelco (Bellefonte, PA, USA). Tanto a pré-incubação como a extração ocorreram à temperatura de 40°C durante 5 e 15 minutos, respectivamente. O cromatógrafo gasoso Varian CP-450 (Walnut Creek, CA, USA) com injetor automático da marca Combipal funciona à temperatura de 220°C e possui uma coluna FactorFour VF-WAXms com 15 m de comprimento, 0,15 mm de diâmetro interno e 0,15 µm de espessura de filme da marca Varian (Lake Forest, CA, USA). O fluxo é de 1,0 mL/min. A aquisição de dados foi feita pelo detetor de massa ion trap Varian Saturn 240 MS (Walnut Creek, CA, USA) em “Full Scan mode” com massa entre os 33 e 350 m/z, sendo os compostos quantificados com extração de íão (m/z). Os compostos foram identificados comparando os tempos de retenção e espectros de massa obtidos de uma amostra contendo padrões puros e autênticos. O método de calibração interna foi utilizado para quantificação dos compostos voláteis identificados e as concentrações foram expressas como equivalentes ao padrão interno.

3.2.4. Análise de Dados

Os dados obtidos em cada análise foram posteriormente tratados e analisados usando funções específicas do MATLAB (R2014b) para a realização da Análise de Componentes Principais (ACP) e da Análise de Agrupamento Hierárquico, a fim de avaliar a distribuição

dos dados e quais as variáveis responsáveis pela variabilidade dos mesmos nos diferentes modelos de garrafa em estudo, bem como obter uma melhor visualização de semelhanças entre as amostras através da análise de agrupamentos. Aplicou-se a Análise de Agrupamento Hierárquico e a ACP às características analíticas pH, dióxido de enxofre livre e total, benzaldeído, furfural, 5-metilfurfural, metilglioxal, glixol, diacetil, fenilacetaldéido, 2-metil-1butanal, 2-metil-1propanal, 3-metil-1butanal, metional, linalol, hexanol, 2-furfural, decanoato de etilo (C10C2), octanoato de etilo (C8C2), hexanoato de etilo (C6C2) e ácido hexanóico (C6). Simultaneamente, aplicou-se a ACP ao potencial de oxidação-redução.

4. Resultados e Discussão

4.1. Resultados obtidos na determinação da variabilidade do perfil interno de gargalos de garrafas

Após as medições dos diâmetros internos de gargalos de garrafas foram obtidas as seguintes figuras (14, 15 e 16) com base nos valores médios.

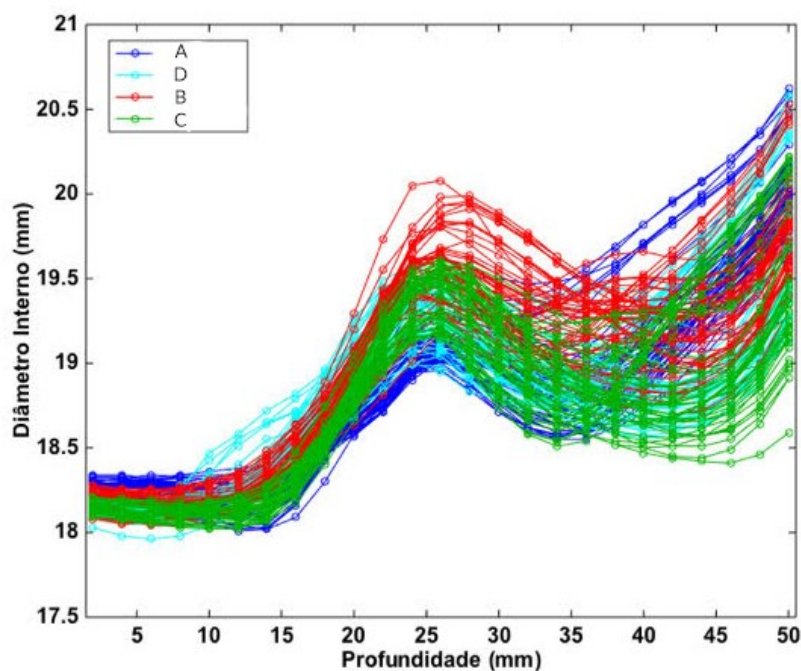


Figura 14 - Diâmetro interno do gargalo em função da profundidade para as amostras dos quatro modelos de garrafas.

A Figura 14 ilustra o perfil interno de gargalos das amostras de garrafas analisadas. As diferentes cores indicam os diferentes modelos de garrafas utilizados no trabalho (azul escuro-A; azul claro-D; vermelho-B e verde-C). A medição do diâmetro interno teve início a uma profundidade de 2 mm e término a uma profundidade de 50 mm (eixo x).

Através do gráfico da Figura 14 é possível verificar que entre os 2 mm e os 15 mm do perfil não existe grande variação entre os diferentes perfis, excepto para o modelo de garrafa D, que entre os 10 mm e os 15 mm o diâmetro interno medido foi ligeiramente superior. A partir dos 20 mm de profundidade observa-se uma maior variação do diâmetro interno em todos os modelos de garrafas, destacando-se o modelo da garrafa B, cujo diâmetro é maior.

De forma a avaliar a variabilidade dos diferentes perfis, recorreu-se à Análise de Componentes Principais (ACP). Esta análise é um método estatístico linear que tem como objetivo a redução do número de variáveis através de combinações lineares das variáveis originais no estudo, as quais são chamadas componentes principais (PCs) (Rasmus e Age, 2014).

A matriz em estudo contém 200 amostras, 25 variáveis e 4 classes que correspondem aos modelos de garrafa.

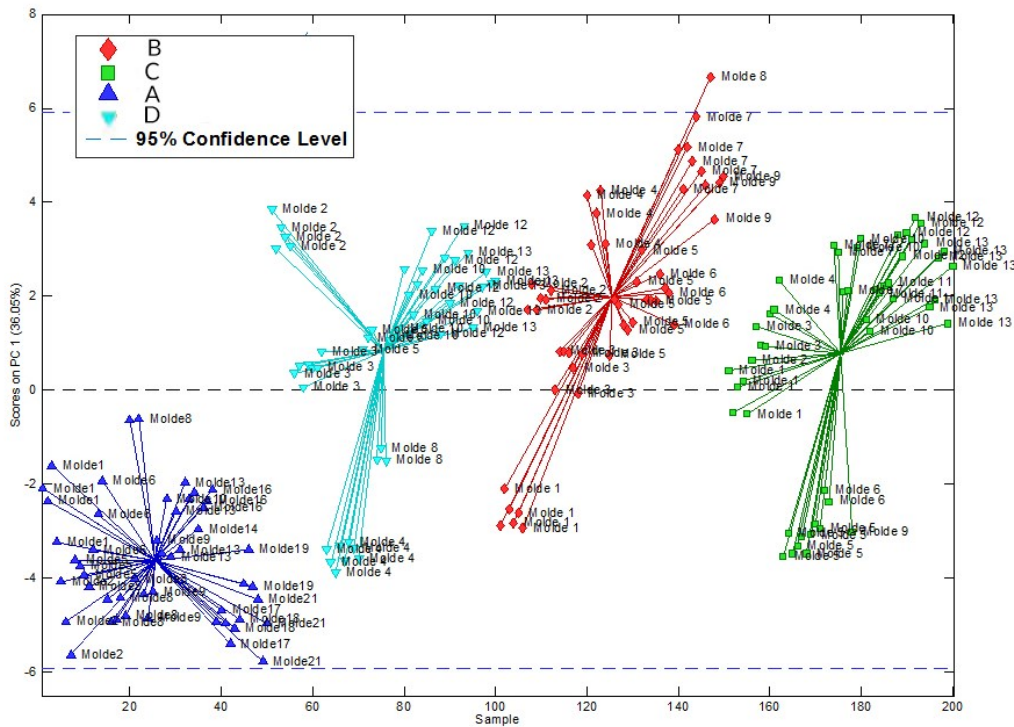


Figura 15 - Gráfico da primeira componente principal (PC1) da ACP (colorido por modelo de garrafa).

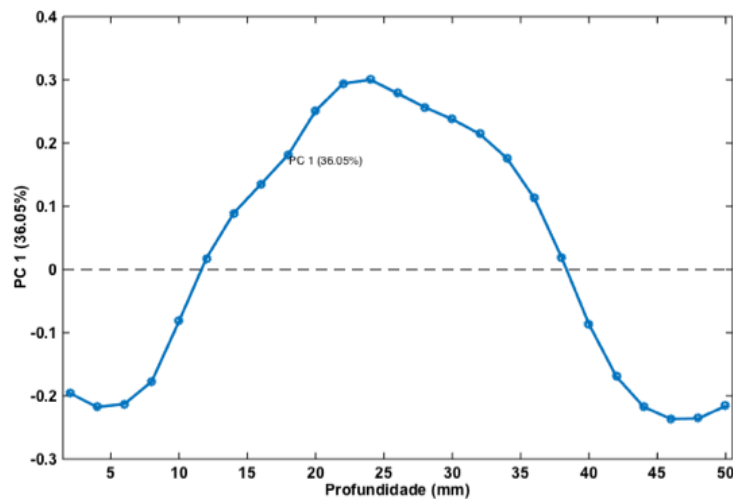


Figura 16 - Gráfico do *loading* da primeira componente principal (PC1) da ACP.

No gráfico da Figura 15 está representada a pontuação (*scores*) da primeira componente principal (PC1) da ACP aplicada ao diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafas, na qual os valores são representados como vetores. Para um intervalo de confiança de 95%, o eixo da primeira componente principal (PC1) explica 36,05% da variância total existente entre os quatro modelos de garrafa, demonstrando que as variáveis discriminam razoavelmente as amostras.

De acordo com a figura, a separação espacial dos quatro modelos de garrafa sugere a formação de dois grupos distintos, um grupo formado pelo modelo de garrafa A (parte negativa do eixo) e um outro grupo formado pelos modelos de garrafa B, C e D (parte positiva do eixo). É possível notar que a PC1 separa o modelo de garrafa A em valores de pontuação negativos e os modelos de garrafa B, C e D em valores de pontuação positivos. Isto evidencia que o modelo de garrafa A possuirá à partida uma maior variância de perfil do gargalo em relação aos restantes modelos. Esta variabilidade observada no modelo de garrafa A é explicada através da figura 16, que corresponde ao gráfico *loading* da PC1 da ACP. Os *loadings* definem o que as componentes principais representam (Rasmus e Age, 2014). Neste caso, o *loading* corresponde às medições do diâmetro interno efetuadas a diferentes profundidades (mm) ao longo do gargalo das amostras de garrafas em estudo. As variáveis com maior peso que explicam a posição do modelo de garrafa A na parte negativa do eixo correspondem aos valores de profundidade compreendidos entre os 2-10 mm e os 40-50 mm. São estas zonas específicas do perfil do gargalo que classificam esta classe correspondente ao modelo de garrafa A. Contudo, é possível observar que algumas amostras de garrafa dos modelos B (correspondente ao molde 1), C (correspondentes aos moldes 1, 5 e 6) e D (correspondentes aos moldes 4 e 8) se encontram-se na parte negativa do eixo, dado que apresentam uma menor variação em relação ao modelo de garrafa A. Ou seja, quanto mais próximas estiverem as amostras, mais similares são em termos do que as variáveis representam (Rasmus e Age, 2014).

Os resultados demonstraram que as amostras de garrafa se agrupam não só por modelo mas também por número de molde. As garrafas produzidas no mesmo conjunto de moldes e no mesmo lote possuem à partida uma maior similaridade entre si no que diz respeito às dimensões do diâmetro interno do gargalo. Por outro lado, a variação encontrada entre os modelos pode ser explicada através de certas limitações no processo de moldação Soprado-Soprado que ocorre durante a produção da embalagem de vidro, uma vez que a distribuição do vidro no molde não é facilmente controlável (Manoel, 2010). A cavidade interior do *párisson* (pré-forma da garrafa correspondente ao gargalo) é criada por um sopro de um

mecanismo pneumático que pode conduzir a irregularidades na espessura da parede das garrafas devido às condições da gota (Manoel, 2010). Desta forma, poderá contribuir para a heterogeneidade dos perfis internos de gargalos de garrafas observada nos diferentes modelos em estudo.

Recorreu-se ao uso do teste paramétrico ANOVA a um fator, com o intuito de verificar se há diferenças estatisticamente significativas na média do diâmetro interno do gargalo medido a diferentes profundidades entre os quatro modelos de garrafa em estudo. A utilização dos testes paramétricos exige que os dados tenham uma distribuição normal. Pelos resultados obtidos no teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov^a ($n > 30$), nem todas as variáveis apresentam uma distribuição normal ($p > 0,05$) (Apêndice, Tabela A). No entanto, estes testes são robustos à violação deste pressuposto para amostras de grande dimensão ($n > 30$) (Pestana e Gageiro, 2005). Pela tabela de análise de variância, observou-se que existem diferenças estatisticamente significativas entre os quatro modelos de garrafa ($p < .05$) em todas as profundidades testadas (Apêndice, Tabela B). Tendo em conta que este teste não permite identificar entre que modelos de garrafa se encontram as diferenças significativas, foi levado a cabo o teste Post-Hoc de Tuckey para alcançar este objetivo.

Pela tabela de grupos homogêneos foi possível constatar que (Apêndice, Tabela C):

- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa dos modelos B e D não difere significativamente entre si nas profundidades 2 mm, 4 mm, 6 mm, 8 mm, 10 mm e 20 mm;
- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa dos modelos C e D não difere significativamente entre si nas profundidades: 4 mm, 24 mm, 30 mm, 32 mm, 34 mm, 36 mm, 38 mm, 40 mm, 42 mm, 44 mm, 46 mm, 48 mm e 50 mm;
- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa dos modelos A e C difere significativamente entre si nas profundidades: 2 mm, 6 mm, 8 mm, 14 mm, 18 mm, 20 mm, 22 mm e 26 mm;

- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa dos quatro modelos difere significativamente entre si nas profundidades: 14 mm, 18 mm, 22 mm e 26 mm;
- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa dos modelos A, C e D não difere significativamente entre si nas profundidades: 30 mm, 32 mm, 34 mm e 36 mm;
- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa dos modelos A, B e D não difere significativamente entre si na profundidade de 10 mm;
- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa do modelo A difere significativamente em relação aos outros modelos nas profundidades: 2 mm, 4 mm, 6 mm, 8 mm, 44 mm, 46 mm e 48 mm;
- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa do modelo B difere significativamente em relação aos outros modelos nas profundidades: 30 mm, 32 mm, 34 mm, 36 mm, 38 mm, 40 mm, 44 mm e 46 mm;
- A média do diâmetro interno do gargalo das amostras de garrafa do modelo C difere significativamente em relação aos outros modelos na profundidade de 10 mm.

Os dados obtidos revelaram concordância na variabilidade dos perfis internos de gargalos de garrafas entre os quatro modelos em estudo, tanto pela ACP quanto pela ANOVA.

4.2. Resultados obtidos na avaliação do impacto do perfil interno de gargalos de garrafas na oxidação do vinho

Foram obtidas as seguintes figuras (17, 18, 19 e 20) com base nos valores médios obtidos através da caracterização analítica efetuada nas amostras em estudo.

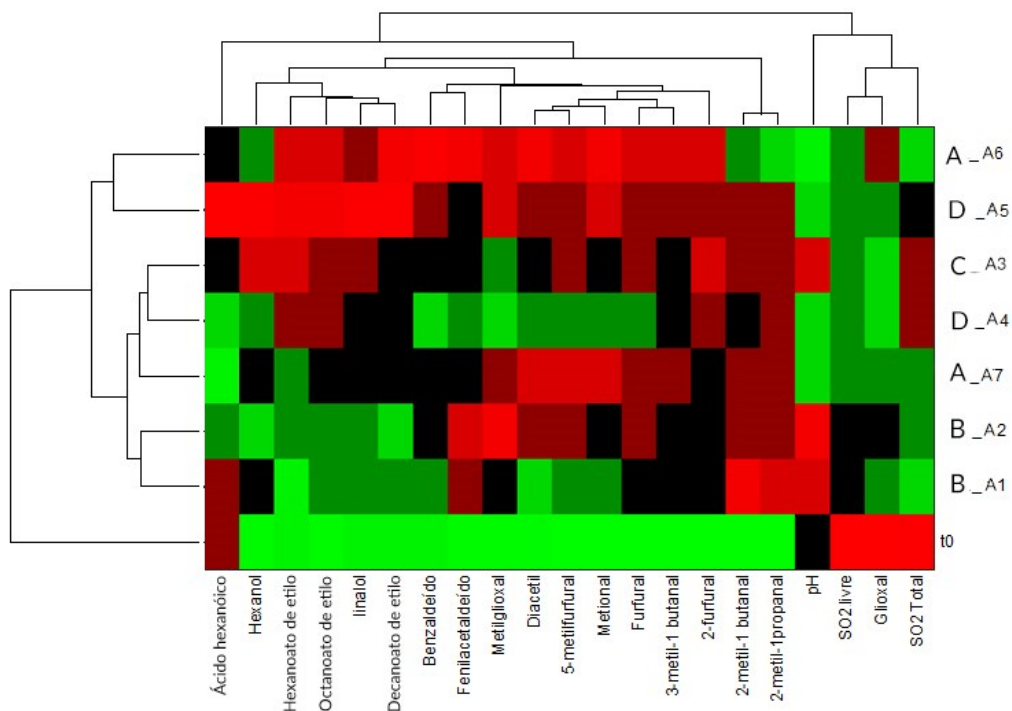


Figura 17- Dendrograma representativo das amostras correspondentes aos quatro modelos de garrafa e das variáveis em estudo.

Na figura 17 está representado um diagrama de árvore produzido pela técnica de agrupamento hierárquico denominado dendrograma. A matriz em estudo é formada por 21 variáveis e 8 amostras, representadas no eixo horizontal e no eixo vertical, respetivamente. O dendrograma agrupa de forma hierárquica as amostras e as variáveis de acordo com o grau de similaridade, de modo que podemos ter uma visão bidimensional da similaridade ou dissimilaridade de todo o conjunto de dados (Neto e Moita, 1998; Moita Neto, 2004). A similaridade entre duas amostras pode ser expressa como uma função da distância entre os dois pontos representativos destas amostras no espaço n-dimensional (Neto e Moita, 1998). Quanto maior for a proximidade entre as medidas relativas às amostras, maior a similaridade entre elas (Neto e Moita, 1998; Moita Neto, 2004). As matrizes de similaridade são visualizadas como parcelas bidimensionais coloridas. Este código de cores reflete os graus de similaridade (Moita Neto, 2004). A cor vermelha indica uma maior concentração da variável, a cor preta indica um estado neutro e a cor verde indica uma menor concentração.

De acordo com o dendrograma da Figura 17, foi possível verificar a formação de dois grupos homogéneos distintos, o primeiro e maior, formado pelas amostras B_A1, B_A2, C_A3, D_A4, D_A5, A_A6 e A_A7, já o segundo grupo é formado apenas pela amostra t0. A amostra t0 formou o último grupo do dendrograma, o qual manteve-se distinto do primeiro

grupo formado, pelo fato desta amostra possuir pouca semelhança em relação às outras. Pode-se ainda constatar que dentro do primeiro grupo formado do dendrograma, as amostras A_A6 e D_A5 são mais parecidas entre si, uma vez que apresentam um padrão de cores mais semelhante, ou seja, apresentam uma maior similaridade. Em contrapartida, as amostras C_A3, D_A4, A_A7, B_A2 e B_A1 são menos semelhantes em relação às amostras A_A6 e D_A5 e mais semelhantes entre si. O mesmo se verifica com as amostras B_A1 e B_A2 que são mais similares entre si e menos semelhantes em relação às restantes amostras do grupo.

A baixa similaridade da amostra t0 em relação às amostras em estudo é explicada pelo padrão de cores formado no dendrograma, ou seja, pela elevada concentração de SO₂ (livre e total) e de Glioxal e pela baixa concentração de compostos carbonílicos (aldeídos e cetonas), bem como compostos voláteis. Estes resultados são expectáveis visto que esta amostra serviu de controlo, não tendo sido submetida ao processo de envelhecimento forçado em laboratório. Durante o envelhecimento do vinho, a formação de aldeídos diminui o teor em SO₂ livre (Ferreira, 2003). Os aldeídos e cetonas são moléculas ligadas à degradação oxidativa de bebidas alcoólicas (Ferreira, 2003), e concentrações elevadas destes compostos podem produzir “off-flavours” (Oliveira *et al.*, 2011; Bueno *et al.*, 2016). Por exemplo, o fenilacetaldeído e o metional têm sido descritos na literatura particularmente pelas suas contribuições de notas de aroma a “mel” (Ferreira, 2003; Oliveira *et al.*, 2011; Monforte *et al.*, 2017) associadas à oxidação prematura (Monforte *et al.*, 2017) e de notas de aroma a “batata cozida”, respetivamente (Ferreira, 2003; Oliveira *et al.*, 2011). Por outro lado, substâncias responsáveis pela qualidade aromática dos vinhos brancos, como o linalol, são degradados pelo efeito conjugado da temperatura e oxigénio (Ferreira, 2003).

Esta técnica de análise multivariada permitiu diferenciar as amostras de vinho branco correspondentes aos diferentes modelos de garrafa em função dos parâmetros químicos determinados e verificar que todas as amostras em estudo sofreram oxidação.

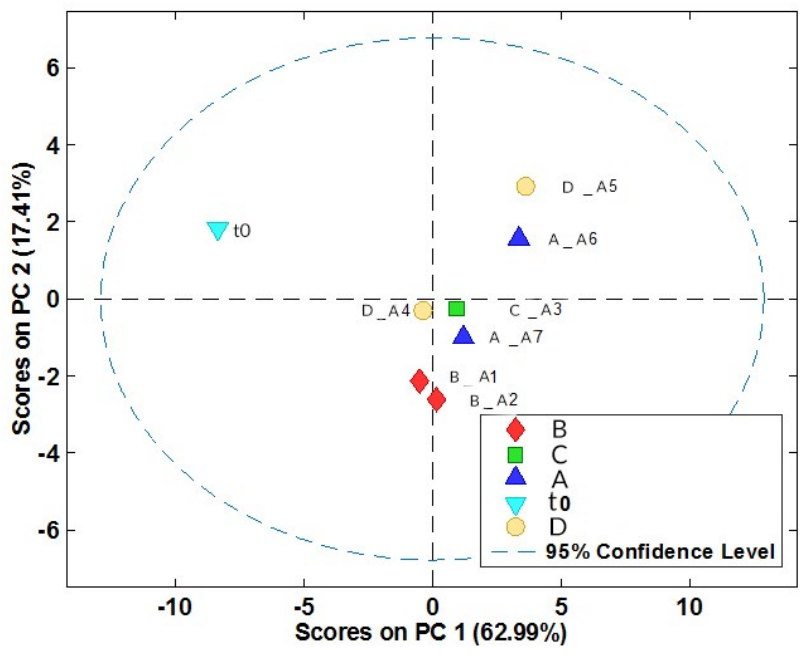


Figura 18- Gráfico da primeira componente principal (PC1) versus segunda componente principal (PC2) da análise de componentes principais (colorido por modelo de garrafa).

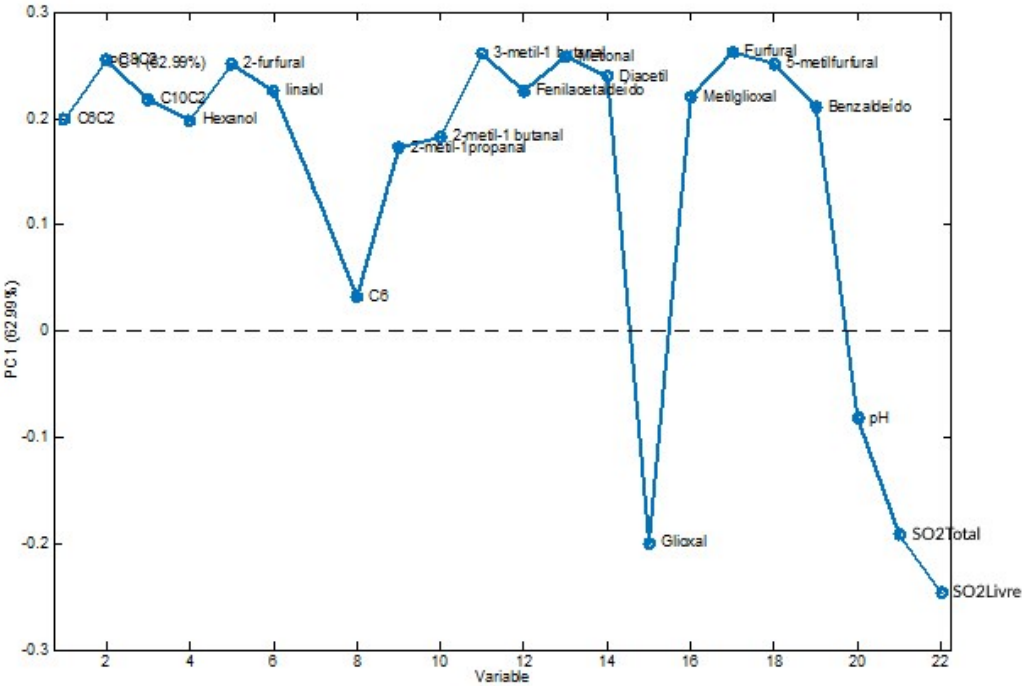


Figura 19- Gráfico do loading da primeira componente principal (PC1) da ACP.

No gráfico da figura 18 estão representadas as pontuações (*scores*) da primeira e da segunda componente principal da ACP. A matriz em estudo é formada por 21 variáveis, 8 amostras e 5 classes que correspondem aos quatro modelos de garrafa e ao controlo.

De acordo com a ACP, foi possível verificar que os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) são responsáveis por 80,40% da variabilidade da distribuição dos dados, sendo o PC1 responsável por 62,99% da variação ocorrida, enquanto o PC2 explicou apenas 17,41% da variação entre as amostras (Figura 18). A primeira componente principal detém mais informação estatística que a segunda componente principal, para além de serem eixos ortogonais (Neto e Moita, 1998). Na parte positiva do eixo da PC1 estão representadas as amostras B_A2, C_A3, D_A5, A_A6 e A_A7, ao passo que no lado negativo do eixo estão representadas as amostras B_A1, D_A4 e t0. A disposição espacial entre as amostras pode ser explicada através da distribuição das variáveis (Figura 19). As variáveis com maior peso (*loadings*) na combinação linear da PC1 podem ser visualizadas no gráfico, sendo que as variáveis com maior influência na disposição das amostras na parte negativa do eixo são: glicoxal, pH, SO₂ livre e total. Por sua vez, as variáveis benzaldeído, furfural, 5-metilfurfural, metilglicoxal, diacetil, fenilacetaldéido, 2-metil-1butanal, 2-metil-1propanal, 3-metil-1butanal, metional, linalol, hexanol, 2-furfural, decanoato de etilo (C10C2), octanoato de etilo (C8C2), hexanoato de etilo (C6C2) e ácido hexanóico (C6) são as que representam as amostras posicionadas na parte positiva do eixo da PC1. A proximidade observada entre duas amostras traduz uma certa similaridade entre essas duas amostras, em termos de variáveis que representam a componente principal (Vicini, 2005). As amostras correspondentes aos modelos de garrafa A e D (A_A6, A_A7, D_A4 e D_A5) são mais semelhantes entre si, comparativamente às amostras do modelo B. Por sua vez, as amostras correspondentes ao modelo B (B_A1 e B_A2) apresentam entre si uma menor variabilidade observada pela elevada proximidade no gráfico.

Em paralelo, foi aplicada a ACP ao potencial de oxidação-redução medido nas amostras de vinho branco em estudo (Figura 20). Esta medida permite avaliar o estado de oxidação do vinho (Ferreira, 2003). Os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) explicam 87,55% da variância total dos dados. A PC1 é responsável por 67,60% da variação ocorrida e a PC2 responsável por 19,95% da variância entre as amostras. Foi possível observar um separamento ortogonal entre as amostras correspondentes aos modelos de garrafa A/D e B/C, mediante as dispersões gráficas no espaço bidimensional, evidenciando assim a ocorrência de diferentes potenciais redox no vinho. A variabilidade da medição potenciométrica foi menor entre as amostras de vinho correspondentes aos modelos de garrafa B e C e maior entre as

amostras de garrafa correspondentes aos modelos A e D. Por outro lado, os resultados também evidenciaram uma maior resistência à oxidação nas amostras de garrafa correspondentes aos modelos B e C, bem como, uma menor resistência à oxidação nas amostras de garrafa correspondentes aos modelos A e D.

Os resultados obtidos vão de encontro com os anteriores, demonstrando a ocorrência de oxidações aleatórias entre os quatro modelos de garrafa e entre as réplicas de um modelo.

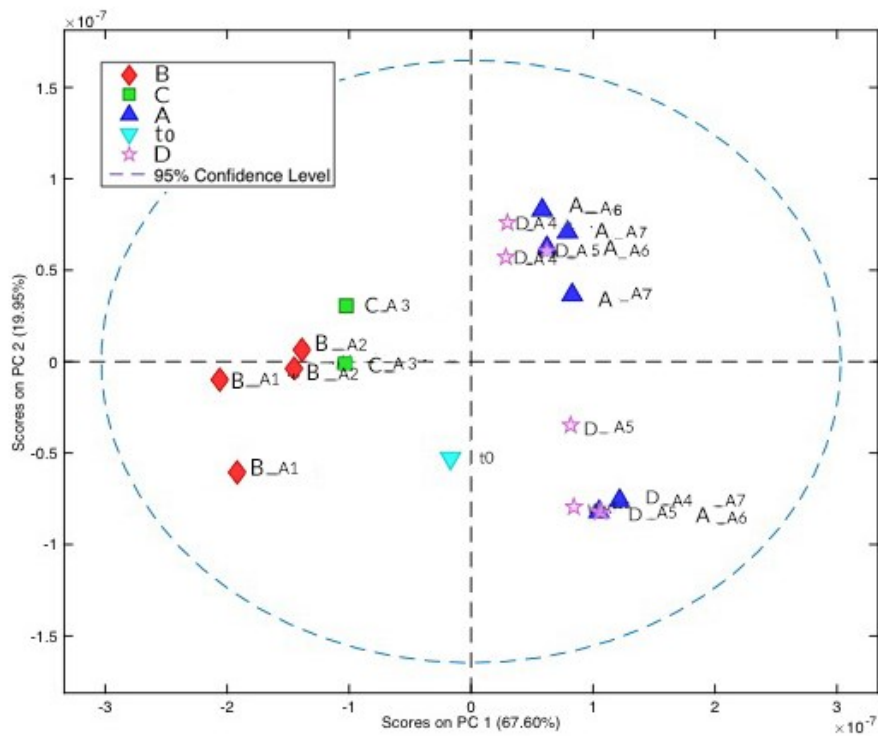


Figura 20- Gráfico da primeira componente principal (PC1) versus segunda componente principal (PC2) da análise de componentes principais (colorido por modelo de garrafa) aplicada ao potencial redox.

5. Conclusão

O presente trabalho pretendeu, por um lado, analisar os perfis internos de gargalos de diferentes modelos de garrafa e posteriormente, compreender o impacto desta variável na oxidação do vinho.

O primeiro estudo demonstrou que existe heterogeneidade de perfil interno de gargalos entre os quatro modelos de garrafa. O segundo estudo corroborou esta heterogeneidade ao reportar diferentes padrões de oxidação, tanto entre modelos como entre réplicas do mesmo modelo. Porém, os modelos A e D destacaram-se: cada um dos modelos apresentou, entre as suas réplicas, uma grande variabilidade, no entanto, estas amostras correspondentes a cada modelo apresentam similaridades entre si. Por fim, o modelo B apresentou uma menor variabilidade, bem como uma menor oxidação no vinho. De fato, os resultados obtidos foram de encontro com as hipóteses previamente mencionadas.

As conclusões de ambos os estudos permitem contribuir para o conhecimento empírico da produção das embalagens de vidro, de modo a potenciar as qualidades temporais do vinho através de uma escolha cuidada das garrafas mais apropriadas para cada tipo de vinho. Para além disso, contribui para a atualização do estado da arte, ao acrescentar conhecimento acerca do impacto do gargalo na oxidação do vinho, potenciando a compreensão do impacto das outras variáveis envolvidas no fecho do produto.

6. Trabalho futuro

Como trabalho futuro que pudesse colmatar algumas limitações metodológicas do presente trabalho sugerimos o aumento do número de amostras de garrafas na compreensão do fenómeno de oxidação. Por um lado, permite compreender de forma mais fidedigna o comportamento de cada modelo, que é limitado apenas com duas réplicas de cada modelo. Por outro lado, uma maior amostragem permite o uso de testes paramétricos e a obtenção de resultados estatisticamente mais confiáveis. Adicionalmente, o uso de outros modelos de garrafas, como por exemplo modelos mais comuns no embalamento do tipo de vinho utilizado no trabalho, seria também vantajoso.

Apesar de a garrafa não ser o único fator que contribui para o fenómeno de oxidação que ocorre após o engarrafamento do vinho, as dimensões do diâmetro interno do gargalo parecem contribuir para uma oxidação aleatória ocorrida nos diferentes modelos de garrafa em estudo. Outra variável para ter em conta será o fecho utilizado, uma vez que o sistema de vedação é constituído pela garrafa + rolha. Complementarmente aos resultados encontrados, avaliar o comportamento de interação destes dois fatores para a oxidação do vinho, através dos mecanismos que ocorrem de transferência de oxigénio, seria o próximo passo para melhor compreensão do impacto destes fatores no fenómeno em estudo. Uma sugestão seria recorrer ao mesmo procedimento utilizado, comparando amostras engarrafadas com rolha natural de cortiça a amostras engarrafadas com rolha técnica. O uso da rolha técnica poderia diminuir a variabilidade, uma vez que só ocorre passagem de oxigénio na zona de interface entre a rolha e a garrafa. Desta forma, poderia observar-se se os modelos de garrafa diferiam utilizando os mesmos marcadores de oxidação.

Por fim, seria interessante replicar o presente estudo com outros tipos de vinho, como por exemplo o vinho do Porto (tinto). Deste modo, iria observar-se se o comportamento deste tipo de vinho seria igual ao vinho utilizado no estudo nos diferentes modelos de garrafa testados, ou se, tal como verificado, encontraríamos um modelo de garrafa que melhor contribuísse para a preservação das qualidades deste vinho especificamente.

Em suma, o presente estudo contribuiu para conhecer a grande variabilidade que existe de perfil interno de gargalos de vários modelos de garrafa, entre si e entre as réplicas de cada modelo. Adicionalmente, permitiu quantificar o impacto dos vários perfis de gargalos nos vários marcadores de oxidação. Este conhecimento tem grande impacto teórico e comercial, representando o passo inicial para a realização de mais estudos que pretendam compreender o

fenómeno de modo mais completo, bem como, para uma melhor adaptação do tipo de embalagem para cada produto específico.

7. Apêndice

Tabela A- Resultados obtidos do Teste de Normalidade aplicado à média do diâmetro interno do gargalo nas diferentes profundidades dos modelos de garrafa em estudo.

	Modelo de garrafa	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Statistic	df	Sig.
Profundidade 2 mm	A	,160	50	,003
	B	,199	50	,000
	C	,122	50	,060
	D	,133	50	,027
Profundidade 4 mm	A	,157	50	,004
	B	,178	50	,000
	C	,103	50	,200*
	D	,156	50	,004
Profundidade 6 mm	A	,126	50	,047
	B	,124	50	,051
	C	,109	50	,187
	D	,171	50	,001
Profundidade 8 mm	A	,099	50	,200*
	B	,097	50	,200*
	C	,118	50	,077
	D	,149	50	,007
Profundidade 10 mm	A	,107	50	,200*
	B	,156	50	,004
	C	,127	50	,043
	D	,197	50	,000
Profundidade 12 mm	A	,105	50	,200*
	B	,188	50	,000
	C	,079	50	,200*
	D	,254	50	,000
Profundidade 14 mm	A	,131	50	,031
	B	,146	50	,010
	C	,078	50	,200*
	D	,159	50	,003
Profundidade 16 mm	A	,156	50	,004
	B	,108	50	,200*
	C	,134	50	,025
	D	,080	50	,200*
Profundidade 18 mm	A	,098	50	,200*
	B	,065	50	,200*

	C	,092	50	,200*
	D	,088	50	,200*
Profundidade 20 mm	A	,119	50	,073
	B	,116	50	,091
	C	,129	50	,037
	D	,098	50	,200*
Profundidade 22 mm	A	,146	50	,009
	B	,199	50	,000
	C	,089	50	,200*
	D	,124	50	,054
Profundidade 24 mm	A	,163	50	,002
	B	,116	50	,091
	C	,205	50	,000
	D	,108	50	,200*
Profundidade 26 mm	A	,138	50	,018
	B	,093	50	,200*
	C	,156	50	,004
	D	,059	50	,200*
Profundidade 28 mm	A	,131	50	,031
	B	,087	50	,200*
	C	,134	50	,024
	D	,113	50	,142
Profundidade 30 mm	A	,144	50	,011
	B	,143	50	,012
	C	,101	50	,200*
	D	,067	50	,200*
Profundidade 32 mm	A	,125	50	,049
	B	,106	50	,200*
	C	,068	50	,200*
	D	,124	50	,053
Profundidade 34 mm	A	,154	50	,005
	B	,138	50	,019
	C	,083	50	,200*
	D	,166	50	,001
Profundidade 36 mm	A	,168	50	,001
	B	,091	50	,200*
	C	,112	50	,155
	D	,172	50	,001
Profundidade 38 mm	A	,174	50	,001
	B	,133	50	,027
	C	,143	50	,012
	D	,100	50	,200*
Profundidade 40 mm	A	,157	50	,004

	B	,113	50	,137
	C	,143	50	,012
	D	,160	50	,003
	A	,176	50	,001
Profundidade 42 mm	B	,088	50	,200*
	C	,175	50	,001
	D	,225	50	,000
Profundidade 44 mm	A	,159	50	,003
	B	,074	50	,200*
	C	,197	50	,000
Profundidade 46 mm	D	,255	50	,000
	A	,124	50	,055
	B	,100	50	,200*
Profundidade 48 mm	C	,194	50	,000
	D	,258	50	,000
	A	,135	50	,023
Profundidade 50 mm	B	,138	50	,018
	C	,201	50	,000
	D	,247	50	,000
Profundidade 50 mm	A	,131	50	,031
	B	,129	50	,037
	C	,139	50	,017
	D	,225	50	,000

Tabela B- Resultados obtidos na análise de variância aplicada à média do diâmetro interno do gargalo nas diferentes profundidades dos modelos de garrafa em estudo.

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Profundidade 2 mm	Between Groups	,243	3	,081	38,547	,000
	Within Groups	,411	196	,002		
	Total	,654	199			
Profundidade 4 mm	Between Groups	,342	3	,114	40,302	,000
	Within Groups	,555	196	,003		
	Total	,897	199			
Profundidade 6 mm	Between Groups	,385	3	,128	40,925	,000
	Within Groups	,615	196	,003		
	Total	1,000	199			
Profundidade 8 mm	Between Groups	,310	3	,103	32,757	,000
	Within Groups	,618	196	,003		

	Total	,928	199			
	Between Groups	,281	3	,094	23,275	,000
Profundidade 10 mm	Within Groups	,789	196	,004		
	Total	1,070	199			
	Between Groups	,518	3	,173	29,271	,000
Profundidade 12 mm	Within Groups	1,156	196	,006		
	Total	1,673	199			
	Between Groups	1,326	3	,442	60,573	,000
Profundidade 14 mm	Within Groups	1,430	196	,007		
	Total	2,755	199			
	Between Groups	2,042	3	,681	101,924	,000
Profundidade 16 mm	Within Groups	1,309	196	,007		
	Total	3,351	199			
	Between Groups	2,010	3	,670	98,953	,000
Profundidade 18 mm	Within Groups	1,327	196	,007		
	Total	3,336	199			
	Between Groups	3,079	3	1,026	88,543	,000
Profundidade 20 mm	Within Groups	2,272	196	,012		
	Total	5,350	199			
	Between Groups	5,537	3	1,846	98,746	,000
Profundidade 22 mm	Within Groups	3,664	196	,019		
	Total	9,201	199			
	Between Groups	5,729	3	1,910	84,858	,000
Profundidade 24 mm	Within Groups	4,411	196	,023		
	Total	10,140	199			
	Between Groups	5,117	3	1,706	64,227	,000
Profundidade 26 mm	Within Groups	5,205	196	,027		
	Total	10,321	199			
	Between Groups	4,931	3	1,644	47,930	,000
Profundidade 28 mm	Within Groups	6,721	196	,034		
	Total	11,652	199			
	Between Groups	4,979	3	1,660	42,395	,000
Profundidade 30 mm	Within Groups	7,672	196	,039		
	Total	12,651	199			
	Between Groups	5,319	3	1,773	44,456	,000
Profundidade 32 mm	Within Groups	7,817	196	,040		
	Total	13,135	199			
	Between Groups	5,458	3	1,819	45,893	,000
Profundidade 34 mm	Within Groups	7,769	196	,040		
	Total	13,227	199			
	Between Groups	5,273	3	1,758	42,451	,000
Profundidade 36 mm	Within Groups	8,115	196	,041		
	Total	13,388	199			

Profundidade 38 mm	Between Groups	4,718	3	1,573	32,857	,000
	Within Groups	9,382	196	,048		
	Total	14,101	199			
Profundidade 40 mm	Between Groups	4,239	3	1,413	22,670	,000
	Within Groups	12,218	196	,062		
	Total	16,457	199			
Profundidade 42 mm	Between Groups	4,942	3	1,647	19,964	,000
	Within Groups	16,173	196	,083		
	Total	21,116	199			
Profundidade 44 mm	Between Groups	6,677	3	2,226	21,094	,000
	Within Groups	20,681	196	,106		
	Total	27,359	199			
Profundidade 46 mm	Between Groups	8,253	3	2,751	22,104	,000
	Within Groups	24,393	196	,124		
	Total	32,646	199			
Profundidade 48 mm	Between Groups	8,100	3	2,700	19,955	,000
	Within Groups	26,521	196	,135		
	Total	34,621	199			
Profundidade 50 mm	Between Groups	7,066	3	2,355	17,214	,000
	Within Groups	26,819	196	,137		
	Total	33,885	199			

Tabela C- Tabelas de grupos homogêneos obtidos pelo Teste Post-Hoc de Tuckey aplicado à média do diâmetro interno do gargalo nas diferentes profundidades dos modelos de garrafa em estudo.

Profundidade 2 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,1454		
D	50		18,1834	
B	50		18,2004	
A	50			18,2424
Sig.		1,000	,251	1,000

Profundidade 4 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,1308		
D	50	18,1562	18,1562	
B	50		18,1746	
A	50			18,2424
Sig.		,083	,311	1,000

Profundidade 6 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,1198		
D	50		18,1514	
B	50		18,1624	
A	50			18,2392
Sig.		1,000	,760	1,000

Profundidade 8 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,1162		
B	50		18,1628	
D	50		18,1654	
A	50			18,2270
Sig.		1,000	,996	1,000

Profundidade 10 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
C	50	18,1128	
B	50		18,1774
D	50		18,2014
A	50		18,2074
Sig.		1,000	,088

Profundidade 12 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,1172		
A	50		18,1902	
B	50		18,2112	
D	50			18,2584
Sig.		1,000	,521	1,000

Profundidade 14 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
C	50	18,1642			
A	50		18,2098		
B	50			18,3046	
D	50				18,3734
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Profundidade 16 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,3126		
A	50	18,3198		
B	50		18,4746	
D	50			18,5482
Sig.		,971	1,000	1,000

Profundidade 18 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
A	50	18,5028			
C	50		18,5466		
B	50			18,6858	
D	50				18,7494
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Profundidade 20 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	50	18,6668		
C	50		18,8118	
B	50			18,9612
D	50			18,9692
Sig.		1,000	1,000	,982

Profundidade 22 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
A	50	18,8412			
C	50		19,1122		
D	50			19,1886	
B	50				19,2898
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Profundidade 24 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	50	19,0386		
D	50		19,3106	
C	50		19,3370	
B	50			19,5116
Sig.		1,000	,815	1,000

Profundidade 26 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
A	50	19,1392			
D	50		19,2754		
C	50			19,3882	
B	50				19,5758
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Profundidade 28 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	50	19,0974		
D	50	19,1614		
C	50		19,2678	
B	50			19,5098
Sig.		,312	1,000	1,000

Profundidade 30 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A	50	18,9930	
D	50	19,0444	
C	50	19,0946	
B	50		19,3988
Sig.		,053	1,000

Profundidade 32 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A	50	18,9014	
C	50	18,9544	
D	50	18,9620	
B	50		19,3120
Sig.		,429	1,000

Profundidade 34 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A	50	18,8618	
C	50	18,8630	
D	50	18,9210	
B	50		19,2594
Sig.		,447	1,000

Profundidade 36 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
C	50	18,8208	
A	50	18,8832	
D	50	18,9012	
B	50		19,2370
Sig.		,201	1,000

Profundidade 38 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,8214		
D	50	18,9098	18,9098	
A	50		18,9658	
B	50			19,2332
Sig.		,184	,577	1,000

Profundidade 40 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,8562		
D	50	18,9330		
A	50		19,1008	
B	50			19,2304
Sig.		,417	1,000	1,000

Profundidade 42 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
C	50	18,9112	
D	50	18,9630	
B	50		19,2302
A	50		19,2664
Sig.		,804	,922

Profundidade 44 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	18,9856		
D	50	19,0290		
B	50		19,2594	
A	50			19,4382
Sig.		,909	1,000	1,000

Profundidade 46 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	19,0886		
D	50	19,1414		
B	50		19,3426	
A	50			19,6058
Sig.		,877	1,000	1,000

Profundidade 48 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	19,2552		
D	50	19,3488	19,3488	
B	50		19,5204	
A	50			19,7844
Sig.		,582	,094	1,000

Profundidade 50 mm

Tukey HSD

Modelo de garrafa	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	50	19,5132		
D	50	19,6428	19,6428	
B	50		19,8238	19,8238
A	50			20,0114
Sig.		,300	,072	,058

8. Bibliografia

Aleixo, F.C., Ballmann, T. J. S., Folgueras, M. V., Junkes, J. A., Della, V. P. 2016. Preparação de vidros sodo-cálcicos utilizando resíduo de lâ de rocha. *Cerâmica* **62** (364): 358-364.

ANFEVI. 2009. Envases de Vidrio. Centro del Envase de Vidrio, Madrid, pp.85.

APCOR. 2015. Manual Técnico Rolhas. pp. 56.

Araujo, L., Brito, C. 1997. Agency and Constitutional Ordering in Networks: A Case Study of the Port Wine Industry. *International Studies of Management and Organization* **27** (4): 22-46.

Azevedo, J., Fernandes, I., Lopes, P., Roseira, I., Cabral, M., Mateus, N., Freitas, V. 2014. Migration of phenolic compounds from different cork stoppers to wine model solutions: antioxidant and biological relevance. *European Food Research and Technology* **239** (6): 951-960.

Azevêdo, L. C., Reis, M. M., Silva, L. A., Andrade, J. B. 2007. Efeito da presença e concentração de compostos carbonílicos na qualidade de vinhos. *Química Nova* **30** (8): 1968-1975.

BA Vidro. 2015. Sustainability Report. pp.29.

Bueno, M., Carrascón, V., Ferreira, V. 2016. Release and Formation of Oxidation-Related Aldehydes during Wine Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **64** (3): 608-617.

Cardoso, C. 2013. Workshop Santarém: Aspectos Técnicos do Trinómio Garrafa-rolha-vinho.

Carrascón, V., Bueno, M., Zurbano, P. F., Ferreira, V. 2017. Oxygen and SO₂ consumption rates in white and rosé wines. Relationship with and effects on wine chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **65** (43): 9488-9495.

Carvalho, I. S. 2009. Avaliação de Stress Oxidativo em Bagos de Videira (*Vitis vinifera* L.) da Casta “Trincadeira” em Condições de Stress Hídrico [Dissertação de Mestrado]. Instituto Superior de Agronomia Universidade Técnica de Lisboa. 64pp.

Costa, D. C. 2012. Caracterização de variedades minoritárias de *Vitis vinifera* L. da região de Trás-os-Montes e contribuição para o estudo do seu potencial enológico [Dissertação de Mestrado]. Instituto Politécnico de Bragança Escola Superior Agrária. 131pp.

Danilewicz, J. C. 2003. Review of Reaction Mechanisms of Oxygen and Proposed Intermediate Reduction Products in Wine: Central Role of Iron and Copper. *American Journal of Enology and Viticulture* **54** (2): 73-85.

Danilewicz, J. C. 2016. Chemistry of Manganese and Interaction with Iron and Copper in Wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **67** (4): 377-384.

Dharmadhikari, M. 1994. Composition of Grapes. *Vineyard & Vintage View* **9**: 3-8.

EGITRON. 2018. “Sistema de Controlo de Garrafas”. Disponível: <http://www.egitron.pt/client/skins/portuguese/produtos.asp?categoria=148> [acedido em: 04/01/2018].

Emblem, A., Emblem, H. 2012. Packaging Technology: Fundamentals, Materials and Processes. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp.595.

Ferreira, A. C. S. 2003. Influência do Oxigénio na Modificação da Composição Aromática dos Vinhos. Escola Superior de Biotecnologia-UCP, pp.23.

Ferreira, A. C. S., Reis, S., Rodrigues, C., Oliveira, C., Pinho, P. G. 2007. Simultaneous Determination of Ketoacids and Dicarboxyl Compounds, Key Maillard Intermediates on the Generation of Aged Wine Aroma. *Journal of Food Science* **72** (5): 314-318.

Flamini, R., Luca, G., Stefano, R. 2002. Changes in carbonyl compounds in Chardonnay and Cabernet Sauvignon wines as a consequence of malolactic fermentation. *Vitis* **41** (2): 107-112.

Fleet, G. H. 2003. Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology* **86**: 11-22.

for the grading of natural cork stoppers for quality wines. *Food and Bioproducts Processing* **93**: 69-76.

Freitas, V. A. P., Ramalho, P. S., Azevedo, Z., Macedo, A. 1999. Identification of Some Volatile Descriptors of the Rock-Rose-Like Aroma of Fortified Red Wines from Douro Demarcated Region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47** (10): 4327-4331.

Garcia, A. S. C., Barros, P. 2015. Química enológica- métodos analíticos: Avanços recentes no controlo da qualidade de vinhos e de outros produtos vitivinícolas. Publindústria-Edições Técnicas, pp.823.

GEHVID. 2007. “Perfil da empresa: líderes em Vinhos do Porto de categorias especiais”. *Douro- Estudos & Documentos* **12** (22):287-296.

Global Embalagem. 2017. “Os tradicionais formatos de garrafas de vidro”. Disponível: <http://www.global-embalagem.pt/pt/articles/os-tradicionais-formatos-de-garrafas> [acedido em: 09/01/2018].

Global Embalagem. 2018. “Influência da cor nas garrafas de vidro”. Disponível: <http://www.global-embalagem.pt/pt/articles/influencia-da-cor-nas-garrafas-de-vidro> [acedido em: 09/01/2018].

Grayhurst, P. 2012. Glass Packaging. In: Packaging Technology: Fundamentals, Materials and Processes (Emblem, A.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, pp. 109-121.

Grupo Amorim. 2014. A Arte da Cortiça, 2ª edição. Corticeira Amorim, S.G.P.S., S.A., Porto, pp. 96.

Grupo Sidel. “Sua Embalagem”. Disponível: <http://www.sidel.pt/sua-embalagem/vidro> [acedido em: 09/01/2018].

Hofmann, T., Schieberle, P. 2000. Formation of Aroma-Active Strecker-Aldehydes by a Direct Oxidative Degradation of Amadori Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** (9): 4301-4305.

Karbowiak, T., Gougeon, R. D., Alinc, J. B., Brachais, L., Debeaufort, F., Voilley, A., Chassagne D. 2010. Wine Oxidation and the Role of Cork. *Food Science and Nutrition* **50** (1): 20–52.

Kilmartin, P. A., Zou, H., Waterhouse, A. L. 2001. A Cyclic Voltammetry Method Suitable for Characterizing Antioxidant Properties of Wine and Wine Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (4): 1957-1965.

Lagorce-Tachon, A., Karbowiak, T., Paulin, C., Simon, J. M., Gougeon, R. D., Bellat, J. P. 2016. About the Role of the Bottleneck/Cork Interface on Oxygen Transfer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **64** (35): 6672-6675.

Li, H., Guo, A., Wang, H. 2007. Mechanisms of oxidative browning of wine. *Food Chemistry* **108** (1): 1-13.

Lopes, H. 2014. SO₂ na conservação dos vinhos. Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro.

Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P. L., Glories, Y. 2007. Main Routes of Oxygen Ingress through Different Closures into Wine Bottles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (13): 5167-5170.

Lopes, P., Silva, M. A., Pons, A., Tominaga, T., Lavigne, V., Saucier, C., Darriet, P., Teissedre, P. L., Dubourdieu, D. 2009. Impact of Oxygen Dissolved at Bottling and Transmitted through Closures on the Composition and Sensory Properties of a Sauvignon Blanc Wine during Bottle Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (21): 10261–10270.

Makhotkina, O., Kilmartin P. A. 2013. Electrochemical Oxidation of Wine Polyphenols in the Presence of Sulfur Dioxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61** (23): 5573-5581.

Manoel, J. A. H. M. C. 2010. Análise de Processos Fabris na BA Vidro [Dissertação de Mestrado]. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto. 55pp.

Marcelino Cortiças. 2004. “Rolhas Naturais”. Disponível: <http://www.marcelinocork.com/> [acedido em 06/12/2017].

Medici, T., Lima, A., Pires de Matos, A., Vilarigues, M. 2014. O papel dos materiais geológicos no estudo de proveniência de vidros. Associação Portuguesa para o Estudo do Quaternário. pp. 243-267.

Mendes, J. A. S. 2008. Estudo sobre a composição química e possíveis aplicações do folhelho de uva [Dissertação de Mestrado]. Universidade de Aveiro. 94pp.

Moita Neto, J. M. 2004. Estatística multivariada – Uma visão didática-metodológica. *Crítica* **1** (1): 1-13.

Monforte, A. R., Martins, S. I. F. S., Ferreira, A. C. S. 2017. Strecker Aldehyde Formation in Wine: New Insights into the Role of Gallic Acid, Glucose, and Metals in Phenylacetaldehyde Formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **66** (10): 2459-2466.

Neto, J. M. M., Moita, G. C. 1998. Uma Introdução à Análise Exploratória de Dados Multivariados. *Química Nova* **21** (4): 467-469.

NP 3548 (1988). IPQ. Vidro de Embalagem. Instituto Português da Qualidade (IPQ). Lisboa.

Oliveira, C. M. D. M. 2006. Resistência de vinhos à oxidação [Dissertação de Mestrado]. Universidade de Aveiro. 152pp.

Oliveira, C. M., Ferreira, A. S., De Freitas, V., & Silva, A. M. 2011. Review: Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International* **44** (5): 1115-1126.

Oliveira, V., Knapic, S., Pereira, H. 2013. Classification modeling based on surface porosity.

Paine, F.A., Paine, H.Y. 1992. A Handbook of Food Packaging, 2th edition. Blackie Academic & Professional, pp. 497.

Pestana, M. E., Gageiro, J. N. 2005. Análise de dados para Ciências Sociais - A Complementariedade do SPSS, 4ª edição. Edições Sílabo, Lisboa, pp. 690.

Pisarnitskii, A. F. 2001. Formation of Wine Aroma: Tones and Imperfections Caused by Minor Components (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology* **37** (6): 651-659.

- Rapp, A. 1998. Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Nahrung* **42** (6): 351-363.
- Risch, S. J. 2009. Food Packaging History and Innovations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (18): 8089-8092.
- Robertson, G. L. 2012. Food Packaging: Principles and Practice, 3rd edition. CRC P, pp. 733.
- Santos, J.F., Ribeiro, J.C. 2012. Estratégias Empresariais de Base Territorial: O Caso Symington e a Produção de Vinho do Porto. pp. 22.
- Silva, M. A., Julien, M., Jourdes, M., Teissedre, P. L. 2011. Impact of closures on wine post-bottling development: a review. *European Food Research and Technology* **233**: 905-914.
- Symington Family Estates. 2017. Manual do Colaborador.
- Symington. 2015. “Quem somos”. Disponível: <https://pt.symington.com/quem-somos> [acedido em: 04/12/2017].
- Verallia Portugal, S.A. 2010-2018. “Qualidades”. Disponível: <https://pt.verallia.com/o-vidro/qualidades> [acedido em: 09/01/2018].
- Vinci, L. 2005. Análise Multivariada da Teoria à Prática. UFSM, Santa Maria, 215pp.