



Desenvolvimento e implementação de métodos de análise dos vinhos brancos e sangrias por Espectroscopia FTIR

ELINA KONDRATYUK

Julho de 2019

Dissertação Submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, ramo Qualidade

Dissertação do Mestrado em Engenharia Química

Realizada na Super Bock Group, SA

Desenvolvimento e implementação de métodos de análise dos vinhos brancos e sangrias por Espectroscopia FTIR

Autor:

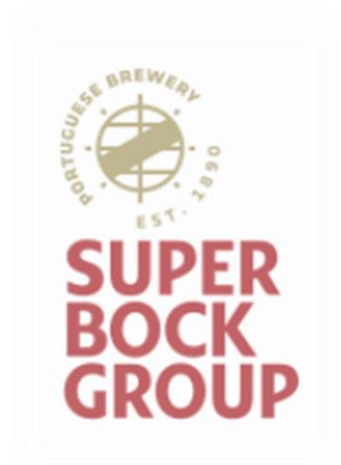
Elina Kondratyuk

Orientação:

Dra. Ana Bela Pinheiro – Super Bock Group, SA

Dra. Maria Teresa Oliva Teles – ISEP

Julho de 2019



Agradecimentos

Neste capítulo quero agradecer às pessoas que direta ou indiretamente, ajudaram-me a cumprir os meus objetivos e a concluir mais uma etapa da minha formação académica.

Primeiramente, queria agradecer ao Laboratório Central, da *Super Bock Group, SA*, por me ter aceite como estagiária nesta etapa tão importante do percurso académico. Em especial à Dra. Ana Bela Pinheiro pela oportunidade de trabalhar com uma equipa de referência e pelas condições que proporcionou para a realização do projeto. Também pela sua ajuda e simpatia demonstrada.

A todos os trabalhadores que conheci na *Super Bock Group, SA*, por terem ajudado a concretizar os meus objetivos e pela sua simpatia, em especial ao Ricardo Correia, Conceição Mendes, Paulo Veiga, Manuel Bandeirinha, Marina Alves, Florbela Faria, Inês Rocha, Ana Rita Silva, Telmo Fernandes e Helena Cunha.

À minha orientadora e professora, Dra. Teresa Teles agradeço a disponibilidade, atenção e orientação que me foi dada ao longo dos anos que passei no ISEP.

Aos meus pais e ao meu irmão, pela fé e motivação que senti ao longo de toda a vida.



Mestrado em Engenharia Química
Ramo Qualidade
Dissertação/Estágio



Sumário

O presente trabalho encontra-se integrado no âmbito da disciplina Dissertação/Estágio do Mestrado em Engenharia Química – ramo Qualidade, do Instituto Superior de Engenharia do Porto. O estágio foi realizado na empresa *Super Bock Group*, SA - líder nacional na área de bebidas. O estágio decorreu no Laboratório Central e teve por objetivo o desenvolvimento e implementação de métodos de análise de vinhos brancos e sangrias por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier.

Foi adquirido o *Thermo Scientific Nicolet iS5 FTIR* com o objetivo de efetuar os ensaios da determinação do teor alcoólico, da acidez volátil acética, da acidez total tartárica, dos açúcares redutores e totais e da massa volúmica, em dois tipos de amostras – vinhos brancos e sangrias. Para a construção das retas de calibração dos métodos respetivos, utilizaram-se vinhos naturais padronizados, incluindo vinhos brancos, rosés e tintos, adquiridos na Comissão de Vinhos Verdes, e vinhos sintéticos de referência da marca TITRIVIN. Os métodos estudados foram avaliados pelos parâmetros de calibração, de precisão intermédia, de repetibilidade e de veracidade. No caso da determinação da repetibilidade, esta foi aceitável para os métodos de análise de teor alcoólico, massa volúmica e acidez total para as amostras de vinho tinto e de vinho branco. Os parâmetros de acidez volátil e teor de açúcares redutores tiveram uma repetibilidade aceitável para as amostras de vinho tinto e o parâmetro de açúcares totais para as amostras de vinho branco. Na determinação da precisão intermédia verificou-se a mesma situação.

Concluiu-se que, após o fim de período de estágio o equipamento em estudo, encontrava-se preparado para a aplicação dos métodos de análise de teor alcoólico, massa volúmica, acidez total e volátil, teor de açúcares totais e redutores, nas amostras de vinho. No caso de sangria, é necessário construir retas de calibração independentes, com recurso à soluções-padrão de sangria, uma vez que, a matriz destas amostras difere significativamente das amostras de vinho.

Abstract

The present study is integrated in the scope of the Dissertation/Internship of the Master's in Chemical Engineering – Quality branch of the Porto Superior Institute of Engineering. The internship was fulfilled in *Super Bock Group, SA*– national leader in the beverages department. The internship occurred in the Central Laboratory and had the goal of development and implementation of methods of analysis of white wines and sangrias by Infrared Spectroscopy with Fourier transform.

The Thermo Scientific Nicolet iS5 FTIR was purchased for determination of alcohol content, volatile acetic acidity, total tartaric acidity, reducing and total sugars and density in two types of samples – white wine and sangrias. For the construction of the calibration lines, standardized natural wines were used, including white, rose and red wines of the Comissão de Vinhos Verdes and synthetic reference wines of the TITRIVIN brand were used. The studied methods were evaluated by calibration parameters, intermediate accuracy, repeatability and veracity. In case of determination of repeatability, was acceptable for methods of analysis of alcoholic strength, density and total acidity for red wine and white wine samples. The parameters of volatile acidity and reducing sugar content had an acceptable repeatability for the red wine samples and the total sugars parameter for the white wine samples. In determining the intermediate accuracy, the same situation was observed.

In the end of the internship period, the equipment under study was ready to use in the wine analysis mentioned methods. However, it is necessary to create independent calibration lines for Sangria using standard solutions, since the matrix of these samples significantly differs from the wine samples.

Key-Words: FTIR, white wine and sangria, method implementation, alcoholic strength, density, total acidity, volatile acidity, total sugars, reducing sugars.



Mestrado em Engenharia Química
Ramo Qualidade
Dissertação/Estágio



Índice

1. Introdução.....	1
1.1 Introdução à Dissertação.....	1
1.2 Super Bock Group, SA	1
1.2.1 História	1
1.2.2 Mercado.....	2
1.2.3 Certificação.....	4
1.3 Tema e Objetivo da Dissertação	4
2. Fundamentos Teóricos	5
2.1 Vinho e Sangria.....	5
2.1.1 Vinho branco	9
2.1.2 Vinho tinto.....	10
2.1.3 Sangria - <i>Vini</i>	10
2.2 Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier.....	11
2.3 Parâmetros analíticos	14
2.3.1 Teor alcoólico.....	15
2.3.2 Acidez volátil acética	16
2.3.3 Acidez total tartárica	18
2.3.4 Açúcares redutores e totais.....	18
2.3.5 Massa volúmica.....	20
2.4 Avaliação do método	21
2.4.1 Curvas de calibração.....	21
2.4.2 Limiares analíticos	22
2.4.3 Repetibilidade e Precisão Intermédia.....	23
2.4.4 Veracidade	24
3. Materiais e Métodos.....	27
3.1 Equipamento e material	27
3.2 Reagentes e soluções.....	29
3.3 Amostras	32
3.4 Procedimento experimental	33
3.4.1 Análise por FTIR	33
3.4.2 Análise por métodos clássicos	34
4. Resultados e Discussão	37

4.1. Espectros.....	37
4.2. Retas de calibração para a análise de vinhos no FTIR.....	39
4.2.1 Teor alcoólico	40
4.2.2 Massa volúmica	42
4.2.3 Acidez volátil acética.....	43
4.2.4 Acidez total tartárica	44
4.2.5 Teor de açúcares totais.....	46
4.2.6 Teor de açúcares redutores.....	48
4.3 Avaliação dos métodos	49
4.3.1 Teste de eficácia e de repetibilidade – método interno do FTIR	49
4.3.2 Teor alcoólico	51
4.3.3 Massa volúmica	53
4.3.4 Acidez total	55
4.3.5 Acidez volátil	57
4.3.6 Açúcares totais	58
4.3.7 Açúcares redutores.....	59
4.4 Análise de Sangria no FTIR.....	60
5. Conclusão	63
6. Sugestões de trabalho futuro	65
7. Outros trabalhos realizados	67
Referências bibliográficas	69
Anexo A – Fichas Técnicas.....	73
A.1 - <i>Monte Sacro Branco</i> [34]	73
A.2 - <i>Monte Sacro Tinto</i> [35].....	74
A.3 - <i>Vini Tinta</i> [11].....	75
A.4 - <i>Vini Branca</i> [36]	76
Anexo B – Reagentes e Soluções	77
B.1 - Soluções utilizadas no FTIR	77
B.2 - Fichas Técnicas TITRIVIN.....	78
Anexo C – FTIR/Resultados no FTIR.....	87
C.1 – Procedimento FTIR	87
C.2 – Teor alcoólico – Comissão de Vinhos Verdes	89
C.3 – Teor alcoólico – Final	90
C.4 – Massa volúmica.....	90

C.5 – Acidez volátil acética – Comissão de Vinhos Verdes.....	91
C.6 – Acidez volátil acética – Final	91
C.7 – Acidez total tartárica – Comissão de Vinhos Verdes	92
C.8 – Acidez total tartárica – Final	92
C.9 – Teor de açúcares totais – Comissão de Vinhos Verdes.....	93
C.10 – Teor de açúcares totais - Final.....	93
C.11 – Teor de açúcares redutores	94
Anexo D - Vários.....	95
D.1 – Conversão de Resultados	95
D.2 – Erro relativo	95
D.3 – Acidez Total.....	96
D.4 – Métodos Clássicos - Procedimento	96
D.5 – Limite de repetibilidade	100

Índice de Figuras

Figura 1. 1 "Brindar a Abril" [1].	2
Figura 1. 2. Marcas de vinhos, sangrias, cervejas e sidras da SBG (Em dezembro de 2018) [2].	2
Figura 1. 3. Marcas de águas e refrigerantes da SBG (Em dezembro de 2018) [2].	3
Figura 1. 4. Presença da SBG no mercado internacional [3].	3
Figura 2. 1 Processos base na produção de vinhos [6].	5
Figura 2. 2. Cinética da fermentação de um mosto com alto teor de açúcar [7]. (“Viable yeast cells per mL” – células viáveis de levedura por mL; “Sugar content” – teor de açúcar; “ethanol content” – teor de etanol; “Viable cell count” – contagem de células viáveis”; “Est” – estacionária)	7
Figura 2. 3. Produção de vinho tinto [8].	9
Figura 2. 4. Produção de vinho branco [8].	9
Figura 2. 5. Vibrações moleculares, de alongamento – stretching, e de flexão – bending, no IV [16].	11
Figura 2. 6. Espectro IV para uma aplicação na farmacologia [13].	12
Figura 2. 7. FTIR tradicional [15].	12
Figura 2. 8. Escala de depreciação do vinho em função do seu teor de acidez volátil [23]. A amarelo – intervalo de limites para o vinho branco, a verde – para a sangria branca, a vermelho – para a sangria tinta.	17
Figura 2. 9. Estrutura de glucose (β -(D)-glucopirranose) e frutose (β -(D)-frutofuranose).	19
Figura 3. 1. Bacchus 3 Thermo Scientific Nicolet iS5 FTIR.	27
Figura 3. 2. Exemplo de alcoómetro utilizado para a medição de %(v/v) de álcool no destilado [33].	28
Figura 3. 3. Anton Paar DMA 4500 com a unidade da medição de álcool e densidade.	29
Figura 3. 4. Amostrador automático.	29
Figura 3. 5. Barril de vinho branco.	32

Figura 3. 6. Esquema da instalação da destilação de etanol presente no vinho por arraste de vapor.	35
Figura 4. 1. Exemplo de um espectro de fundo (Transmitância (%) vs. Número de onda (cm^{-1})) obtido no FTIR.....	37
Figura 4. 2. Espectro de uma solução-padrão da Comissão de Vinhos Verdes (Transmitância (%) vs. Número de onda (cm^{-1})) [Escala vertical: 0 - 280 %; Escala horizontal: 4 000 - 400 cm^{-1}].	38
Figura 4. 3. Espectro de um vinho branco de barril [Escala vertical: 0 - 280 %; Escala horizontal: 4 000 - 400 cm^{-1}].	38
Figura 4. 4. Espectro do AA5 [Escala vertical: 0 – 1 000 %; Escala horizontal: 4 000 - 400 cm^{-1}].	39
Figura 4. 5. Reta de calibração para o teor alcoólico, traçada com os padrões da Comissão de Vinhos Verdes.....	40
Figura 4. 6. Reta de calibração, para o teor alcoólico obtida com soluções-padrão naturais e sintéticas.....	41
Figura 4. 7. Reta de calibração de massa volúmica (g/cm^3 obtida vs. g/cm^3 de referência).	42
Figura 4. 8. Reta de calibração de acidez volátil construída com padrões da Comissão de Vinhos Verdes.	43
Figura 4. 9. Reta de calibração, final, de acidez volátil (g/dm^3 obtida vs. g/dm^3 de referência).....	44
Figura 4. 10. Reta de calibração de acidez total construída com padrões da Comissão de Vinhos Verdes.	45
Figura 4. 11. Reta de calibração de acidez total, obtida com padrões naturais e sintéticos.	46
Figura 4. 12. Reta de calibração de açúcares totais construída com padrões da Comissão de Vinhos Verdes.....	47
Figura 4. 13. Reta de calibração, final, de açúcares totais obtida com padrões naturais e sintéticos.	48
Figura 4. 14. Reta de calibração para o teor de açúcares redutores.....	49

Figura 4. 15. Espectro (Absorvância (%) vs. Número de onda (cm^{-1})) de uma amostra de vinho branco de cisterna (azul), de vinho branco de barril (violeta) e de barril de sangria (vermelho). 60

Índice de Tabelas

Tabela 2. 1. Valores limite para os parâmetros de teor alcoólico, acidez volátil acética, acidez total tartárica, açúcares redutores e o respetivo regulamento jurídico.	14
Tabela 2. 2. Álcoois mais representativos no vinho [7].	15
Tabela 2. 3. Limite inferior especificado (LIE), superior especificado (LSE) e o valor alvo do teor alcoólico nos produtos de vinho branco e sangria da SBG, em %(v/v).	16
Tabela 2. 4 Limite inferior especificado (LIE), superior especificado (LSE) e o valor alvo da acidez volátil (g/dm ³) nos produtos de vinho branco e sangria da SBG.....	17
Tabela 3. 1. Concentração de teor alcoólico %(v/v), de massa volúmica (g/cm ³), de açúcares totais (g/dm ³), de acidez tartárica total (g/dm ³) e de acidez acética volátil (g/dm ³) para as soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes.....	31
Tabela 3. 2. Concentração de teor alcoólico %(v/v), de açúcares totais e redutores (g/dm ³), de acidez tartárica total (g/dm ³) e de acidez acética volátil (g/dm ³) para as soluções-padrão TITRIVIN.	32
Tabela 4. 1. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (%v/v) para o parâmetro de teor alcoólico, das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes.....	40
Tabela 4. 2. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (%v/v) para o parâmetro de teor alcoólico, obtidos com padrões naturais e sintéticos.....	41
Tabela 4. 3. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (g/cm ³) para o parâmetro de massa volúmica.....	42
Tabela 4. 4. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (g/dm ³) para o parâmetro de acidez volátil acética, obtidos com as soluções-padrão da Comissão. ...	43
Tabela 4. 5. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (g/dm ³) para o parâmetro de acidez volátil acética, obtidos com os padrões de vinho natural e sintético.	44
Tabela 4. 6. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (g/dm ³) para o parâmetro de acidez total tartárica – Comissão.	45
Tabela 4. 7. Equação da reta, razão performance/desvio, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOQ (g/dm ³) para o parâmetro de acidez total tartárica.	46

Tabela 4. 8. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOD, LOQ (g/dm^3) para o teor de açúcares totais, obtidos com as soluções-padrão da Comissão.	47
Tabela 4. 9. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOD, LOQ (g/dm^3) para o teor de açúcares totais, para os padrões naturais e sintéticos.	48
Tabela 4. 10. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOD, LOQ (g/dm^3) para o teor de açúcares redutores.....	49
Tabela 4. 11. Resultados do teste de eficácia, obtidos com uma amostra de vinho branco de cisterna (v) e água desionizada (a).....	50
Tabela 4. 12. Valores obtidos para o teste de repetibilidade interno do FTIR, obtidos a partir de 11 tomas de uma amostra de vinho branco de barril; a respetiva média (x) e o desvio-padrão (%).	50
Tabela 4. 13. Valores de teor alcoólico obtidos pelo FTIR, em comparação com alcoómetro, Anton Paar e densímetro digital, para amostras de mosto, vinho tinto e vinho branco de barril, em $\%(v/v)$	51
Tabela 4. 14. Valores do erro relativo de resultados obtidos pelo FTIR, em comparação com alcoómetro, Anton Paar e densímetro digital, para amostras de vinho tinto e vinho branco de barril, em %.	51
Tabela 4. 15. Valores de teor alcoólico $\%(v/v)$, da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto para o vinho branco e tinto.	52
Tabela 4. 16. Valores da precisão intermédia, da média dos valores $\%(v/v)$ e do desvio-padrão percentual para o teor alcoólico.	53
Tabela 4. 17. Valores obtidos pelo FTIR, em comparação com o densímetro digital, para amostras de vinho de cisterna branco, vinho tinto e vinho branco de barril, em (g/cm^3) e o erro relativo respetivo (%).	54
Tabela 4. 18. Valores de massa volúmica (g/cm^3), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto para o vinho branco e tinto.	54
Tabela 4. 19. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/cm^3) e do desvio-padrão percentual para a massa volúmica.	55
Tabela 4. 20. Valores obtidos pelo FTIR, em comparação com a titulação, para amostras de vinho de cisterna branco, vinho tinto e TVF branco, em (g/dm^3) e o erro relativo respetivo (%), para o parâmetro de acidez total.	55

Tabela 4. 21. Valores de acidez total (g/dm^3), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto para o vinho branco e tinto.....	56
Tabela 4. 22. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/dm^3) e do desvio-padrão percentual para a acidez total.....	56
Tabela 4. 23. Valores de acidez volátil (g/dm^3), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto para o vinho tinto.	57
Tabela 4. 24. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/dm^3) e do desvio-padrão percentual para a acidez volátil.....	57
Tabela 4. 25. Valores do teor de açúcares totais (g/dm^3), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto, para o vinho branco.	58
Tabela 4. 26. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/dm^3) e do desvio-padrão percentual para o teor de açúcares totais.	58
Tabela 4. 27. Valores do teor de açúcares redutores (g/dm^3), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto, para o vinho tinto.....	59
Tabela 4. 28. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/dm^3) e do desvio-padrão percentual para o teor de açúcares redutores.	59
Tabela 4. 29. Teor alcoólico em $\%(\text{v/v})$ das amostras de sangria branca e tinta, medido no FTIR, no Anton Paar, no Alcoómetro e através da conversão da densidade lida no densímetro digital.	61
Tabela 4. 30. Valores do erro relativo de resultados obtidos pelo FTIR, em comparação com alcoómetro, Anton Paar e densímetro digital, para amostras de sangria tinta, em $\%.$	61
Tabela C. 1. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de álcool $\%(\text{v/v})$	89
Tabela C. 2. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, e soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de álcool $\%(\text{v/v})$	90
Tabela C. 3. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de massa volúmica (g/cm^3).	90
Tabela C. 4. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de acidez volátil (g/dm^3).	91

Tabela C. 5. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, e soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de acidez volátil (g/dm^3).....	91
Tabela C. 6. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de acidez total (g/dm^3).	92
Tabela C. 7. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, e soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de acidez total (g/dm^3).....	92
Tabela C. 8. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de açúcares totais (g/dm^3).	93
Tabela C. 9. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, e soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de açúcares totais (g/dm^3).	93
Tabela C. 10. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de açúcares redutores (g/dm^3).	94
Tabela D. 1. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de álcool, nas amostras de vinho branco.	100
Tabela D. 2. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de massa volúmica, nas amostras de vinho branco.	100
Tabela D. 3. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de acidez total, nas amostras de vinho branco.....	100
Tabela D. 4. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de açúcares totais, nas amostras de vinho branco.	100
Tabela D. 5. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de álcool, nas amostras de vinho tinto.....	100
Tabela D. 6. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de massa volúmica, nas amostras de vinho tinto.....	100
Tabela D. 7. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de acidez total, nas amostras de vinho tinto.	100
Tabela D. 8. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de acidez volátil, nas amostras de vinho tinto.....	101

Tabela D. 9. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de açúcares redutores, nas amostras de vinho tinto.....	101
---	-----

Lista de Abreviaturas e Siglas

b – Ordenada na origem;

CUFP - Companhia União Fabril Portuense das Fábricas de Cerveja e Bebidas Refrigerantes;

EMC – Compatibilidade eletromagnética;

Er – Erro relativo em percentagem;

FTIR - Espetrómetro no infravermelho com transformada de Fourier;

IV – Infravermelho;

LIE – Limite inferior especificado;

LOD – Limite de deteção;

LOQ – Limite de quantificação;

LSE – Limite superior especificado;

m – Declive de reta;

MIR - Infravermelho médio;

N – Número de pontos marcados na reta de calibração;

NIR - Infravermelho próximo;

PV – Verificação de performance;

R – Coeficiente de correlação;

r – Limite de repetibilidade;

RoHS – Restrição de certas substâncias perigosas;

S(i) – desvio-padrão de precisão intermédia;

S(ri) – Desvio-padrão de repetibilidade;

S(y/x) – Desvio-padrão residual da reta de regressão;

SBG – Super Bock Group, SA;

TRV – Vinho em tanque de receção;

TVF – Vinho lote preparado para ir para o enchimento;

UNICER - União Cervejeira E.P.;

VMPS – Grupo Vidago, Melgaço e Pedras Salgadas;

x(i) - Valores individuais de x;

X_{exp} – Valor obtido experimentalmente (no FTIR);

X_v – Valor aceite como verdadeiro (método clássico);

y(i) – Valores individuais de y.

1. Introdução

1.1 Introdução à Dissertação

O trabalho descrito no presente documento foi realizado no âmbito da disciplina “Dissertação/Estágio”, incluída no Mestrado em Engenharia Química - ramo Qualidade. O projeto foi desenvolvido na empresa *Super Bock Group, SA (SBG)* com início em 31/10/2018 e com o seu fim em 07/06/2019, teve como o objetivo o desenvolvimento e implementação de métodos de análise dos vinhos brancos e sangrias através do Espetrómetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). O estágio decorreu no Laboratório Central da *SBG*.

1.2 Super Bock Group, SA

1.2.1 História

A empresa *SBG* teve o seu início em 1890 quando foi criada a Companhia União Fabril Portuense das Fábricas de Cerveja e Bebidas Refrigerantes (*CUFP*). Ao longo dos anos, a sua história e a presença no mercado evoluíam rapidamente, com a aquisição e renovação de equipamentos, inauguração da fábrica Leão (1914), registo da marca *Pilsener Crystal* (1915), desenvolvimento dos sistemas de transporte, entre outros fatores. Em 1927 foi registada a marca *Super Bock*. Em 1955 a produção de cerveja ultrapassou os três milhões de litros e o crescimento registado foi de quase 50 %, uma vez que em 1954 foi concluída a renovação tecnológica e as obras na fábrica de Júlio Dinis, que teve o seu início em 1934. Na década 60 a história da *CUFP* foi marcada pela mudança das instalações para a localização atual – Leça do Balio, na Via Norte. A fábrica apresentava uma capacidade anual de produção de 25 milhões de litros e mensal que poderia atingir os 50 mil hectolitros. Em 1975 o setor cervejeiro português foi nacionalizado por decisão do Movimento das Forças Armadas, na sequência da revolução de 25 de Abril de 1974, como se ilustra na figura 1.1. A 30 de Dezembro de 1977 ocorreu a transformação da *CUFP* em *Unicer*, que resultou da fusão da *CUFP* com a *COPEJA*, a *IMPERIAL* e ainda com a *RICAL*. Esta nova sociedade ficou sediada nas instalações da ex-*CUFP*, em Leça do Balio [1].

Em 1986 a *Unicer* tornou-se líder do mercado nacional cervejeiro com uma quota de 50,8 %. Em 26 de Abril de 1989 ocorreu a privatização de 49 % do capital, sendo a primeira privatização de uma empresa pública. Foi constituída a *Maltibérica*, da qual a *Unicer* é acionista maioritária, com o objetivo de ter uma malteria¹ própria. Na primeira década de presente século, a empresa passa a ser –



Figura 1. 1 "Brindar a Abril" [1].

Unicer, Bebidas de Portugal, SA, depois de adquirir o grupo Vidago, Melgaço, Pedras Salgadas (VMPS) e a Caféeira [1]. No ano de 2017 a *Unicer, Bebidas de Portugal, SA* passa a designar-se *Super Bock Group, SA (SBG)*.

1.2.2 Mercado

A SBG é uma líder nacional na venda de bebidas de vários tipos, nas figuras 1.2 e 1.3 encontram-se ilustradas as marcas de bebidas pertencentes, por categoria.

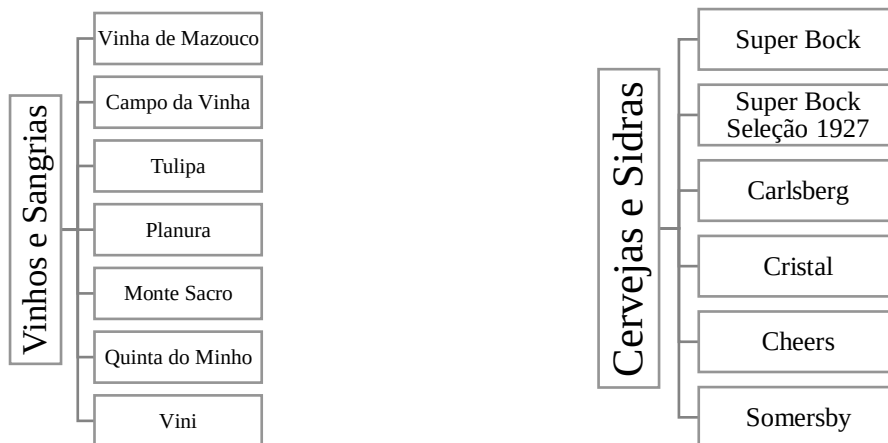


Figura 1. 2. Marcas de vinhos, sangrias, cervejas e sidras da SBG (Em dezembro de 2018) [2].

¹ Malteria – unidade de produção de malte.

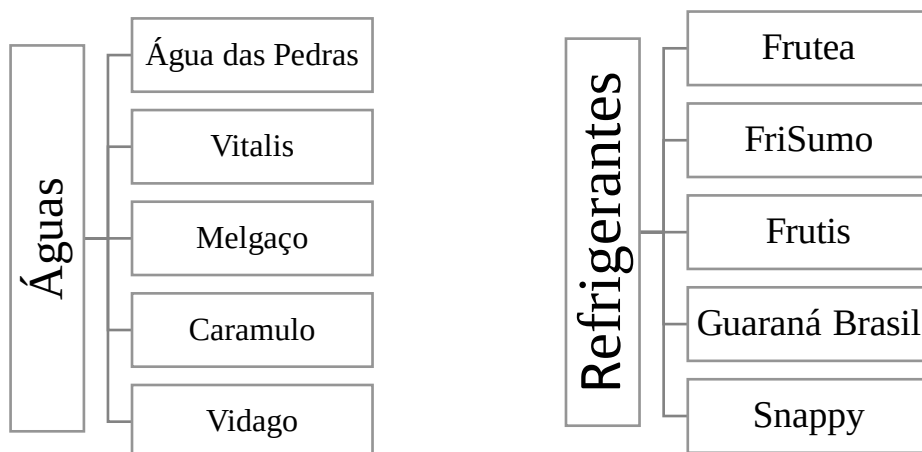


Figura 1. 3. Marcas de águas e refrigerantes da SBG (Em dezembro de 2018) [2].

Para além de ser uma líder nacional, a SBG também está presente, fortemente, no mercado internacional, como é representado na figura 1.4. Os produtos da SBG podem ser encontrados, nos países, como, por exemplo, Estados Unidos, China, Brasil, Japão, África do Sul, entre outros.



Figura 1. 4. Presença da SBG no mercado internacional [3].

1.2.3 Certificação

Sendo uma empresa de referência, a *SBG* tem uma forte preocupação com a qualidade dos seus serviços e produtos. Para a confirmação do seu desempenho possui várias certificações:

- IFS-IS 208638 (Produção e enchimento de cerveja);
- ISO 14001 (Sistemas de gestão ambiental);
- ISO 22000 (Sistemas de gestão de segurança ambiental);
- ISO 9001 (Sistema de gestão de qualidade);
- OHSAS 18001 (Sistema de gestão de saúde e segurança);

A certificação IFS-IS 208638 confirma que a *SBG* cumpre os requisitos, no nível mais elevado (95,39%), para a produção e enchimento de cerveja (com e sem álcool), em garrafas de alumínio ou vidro, cidras em garrafas de vidro e latas de alumínio e bebidas de malte em garrafas de vidro.

1.3 Tema e Objetivo da Dissertação

O objetivo deste trabalho consistiu no desenvolvimento e implementação de métodos de análise dos vinhos brancos e sangrias através do FTIR. O equipamento em questão deve ser capaz de analisar amostras de diferentes composições de concentrações variadas, como, por exemplo, vinho de cisternas que chegam à *SBG*, mosto de vinho branco/tinto, vinho branco, sangria tinta/branca. Com a ajuda do equipamento FTIR pretendeu-se desenvolver métodos para a determinação do teor alcoólico, massa volúmica, acidez volátil acética, acidez total tartárica, teor de açúcares totais e redutores.

2. Fundamentos Teóricos

Neste capítulo serão descritos conceitos teóricos e técnicos, relacionadas com o tema da dissertação e estudos que foram realizados durante o período de estágio.

2.1 Vinho e Sangria

O vinho é um dos produtos alimentares mais antigos, produzidos pelo homem. Pensa-se que a sua produção começou na Geórgia por volta de 7 000 a.C. [4]. Este produto tem grande importância histórica, pois acompanhou a evolução económica e sociocultural mundial. É um substrato complexo, que contém álcool, ácidos orgânicos, glucose, frutose, glicerol, compostos fenólicos e proteínas como os constituintes base [5]. O vinho é um produto obtido a partir da fermentação alcoólica de uvas ou do mosto de uvas frescas, e, dependendo do seu tipo, as suas características podem variar. O mosto de uvas é definido como o produto líquido obtido naturalmente ou por processos físicos a partir de uvas frescas. Os tipos de vinho mais populares são o vinho verde, o tinto, o branco e o rosé. Neste trabalho os produtos de interesse são os vinhos brancos e a sangria. A sangria, normalmente, resulta da mistura do vinho tinto ou branco com aromas, acidificantes, etc.

Todos os vinhos, em geral, passam pelos mesmos processos base na sua produção, embora existam algumas diferenças na produção, conforme o seu tipo. A figura 2.1 mostra os processos típicos de produção nos vinhos.

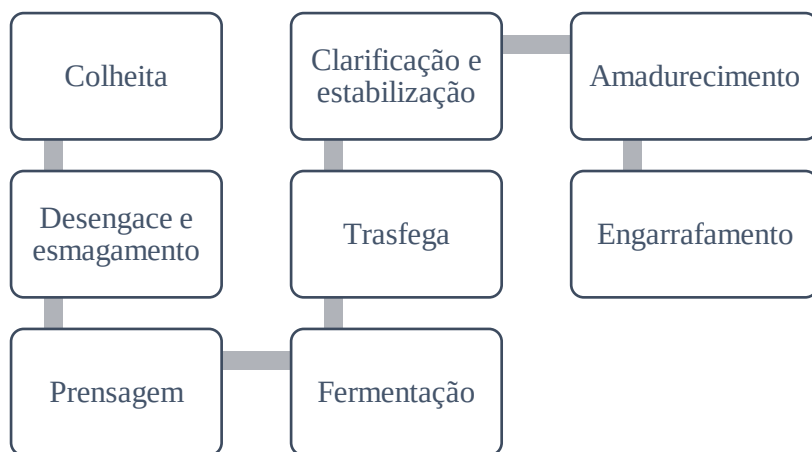


Figura 2. 1 Processos base na produção de vinhos [6].

A colheita pode ser realizada em diferentes épocas, dependendo do tipo de uva, da fase de maturação e das condições climáticas. Quando as uvas são colhidas antecipadamente, o vinho tende a ser mais ácido e com um teor alcoólico mais reduzido. Com o atraso da colheita, a acidez vai diminuir e o teor alcoólico aumenta. Para determinar o tempo ideal de colheita, monitorizam-se dois parâmetros principais – a maturação tecnológica (avaliação do teor de açúcares e de acidez) e a maturação fenólica² (determinação dos principais polifenóis: antocianinas e taninos) [6].

O processo de desengace e esmagamento inicia a vinificação. Durante este processo são retirados os engaços dos grãos (responsáveis pelo amargo indesejável no vinho) e as cascas das uvas são rompidas. No caso dos vinhos brancos, o mosto-flor (o primeiro líquido obtido após o esmagamento) é separado e depois é utilizado para a produção de vinhos mais nobres, sendo mais rico em açúcares, com uma acidez e quantidade de taninos menores [6].

De seguida, o mosto dos vinhos brancos é prensado para separar as cascas e as sementes. No caso de vinhos tintos e rosé, não se efetua esta etapa, uma vez que, a sua fermentação ocorre juntamente com as cascas, para o desenvolvimento da cor [6].

No caso do mosto, é admitido um título alcoométrico adquirido que não exceda 1% vol. O mosto pode depois ser inoculado com leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que irão induzir a fermentação alcoólica de forma controlada [5]. No processo de fermentação, as leveduras consomem o açúcar e transformam-no em álcool e dióxido de carbono. A fermentação pode ocorrer em tanques inox ou em barris de madeira (regularmente são barris de carvalho). Um dos fatores mais importantes é a temperatura da fermentação, no caso de vinhos brancos e rosés deve ser baixa, para preservar o aroma e o sabor. Os vinhos tintos devem ser fermentados a temperaturas elevadas para uma elaboração de cor mais profunda e, desta forma, também se obtém um teor de taninos mais elevado [6].

² Os compostos fenólicos são responsáveis pela qualidade dos vinhos – cor, sabor, corpo.

Na figura 2.2 encontra-se representado um gráfico da cinética de fermentação para um mosto com alto teor de açúcar. A fermentação de vinho é, normalmente, de tipo batch e tem 4 fases – lag³ (adaptação), log⁴ (crescimento acelerado), estacionário e declínio, no que diz respeito ao número de células viáveis [7]. Inicialmente, as células precisam de algum tempo para se adaptarem ao novo ambiente, e neste período inicial a quantidade de células que é produzida é igual à que morre. Após esta adaptação, as células multiplicam-se a uma taxa constante, até que as condições se tornem desfavoráveis. A curva aproxima-se a uma forma exponencial – log. Durante este período, a população de células viáveis aumenta rapidamente e atinge seu valor máximo. Enquanto isso, o teor de nutrientes, expresso pelo teor de açúcares, disponível diminui rapidamente e os subprodutos metabólicos tóxicos, nomeadamente, o etanol, acumulam-se. Assim, após um período de crescimento rápido, a taxa de divisão celular diminui e as células ficam metabolicamente inativas. Dá-se o início à fase estacionária.

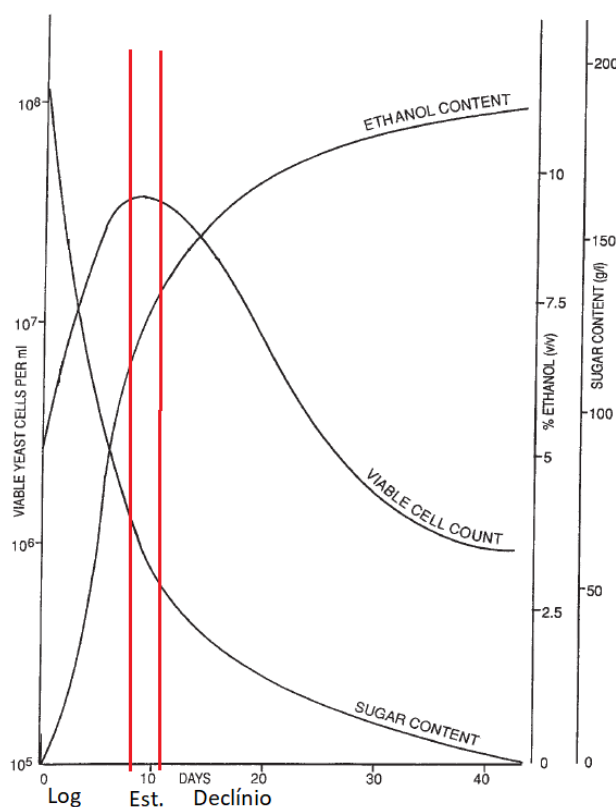


Figura 2. 2. Cinética da fermentação de um mosto com alto teor de açúcar [7]. (“Viable yeast cells per mL” – células viáveis de levedura por mL; “Sugar content” – teor de açúcar; “ethanol content” – teor de etanol; “Viable cell count” – contagem de células viáveis”; “Est” – estacionária)

³ O microrganismo tem de se adaptar ao novo meio de cultura e sintetizar os componentes necessários para a sua divisão. O número de células sofre uma variação mínima.

⁴ É a fase em que ocorre um aumento constante do número de organismos na cultura. O ritmo de crescimento da população é uma medida do aumento da biomassa ao longo do tempo.

Como os nutrientes continuam a deteriorar-se e a concentração de substâncias tóxicas aumenta, a cultura entra na fase de declínio.

No caso de mosto, como se pode ver pela figura 2.2, a fase de adaptação é muito curta, ou indetetável; a fase do crescimento exponencial é relativamente curta; a fase estacionária pode ser curta e a fase do declínio é atipicamente longa, e a população de células viáveis pode permanecer ativa por vários meses. Neste fase pode ocorrer a tranformação de 40 % de açúcar em álcool [7].

Ao longo do processo de fermentação, os resíduos sólidos, como a matéria orgânica e as leveduras vão-se depositando no fundo do tanque, logo o vinho deve ser transferido para outro tanque, no final da fermentação, de forma a evitar que os cheiros e sabores desagradáveis sejam passados para o vinho. Este processo é designado de trasfega [6].

Durante a clarificação e estabilização, o vinho é submetido a diferentes processos, durante os quais são eliminados compostos que conferem turvação ao vinho. De seguida é estabilizado por três processos [6]:

- estabilização ao calor – evita que o vinho submetido a altas temperaturas turve;
- estabilização ao frio – evita formação de cristais a baixas temperaturas;
- estabilização microbiológica – evita novas fermentações após o engarrafamento.

A etapa de amadurecimento pode ser realizada em tanques de aço, que limitam a exposição ao oxigénio, mantendo o vinho mais fresco. Ou, também, em barris de madeira, que promovem uma oxigenação maior, resultando na redução do teor de taninos e acidez [6].

O processo de engarrafamento finaliza o processo de produção. Após o engarrafamento, o vinho é deixado em repouso para a sua estabilização [6].

Nas figuras 2.3 e 2.4 encontram-se as representações esquemáticas da produção de vinho tinto e vinho branco.



Figura 2. 3. Produção de vinho tinto [8].

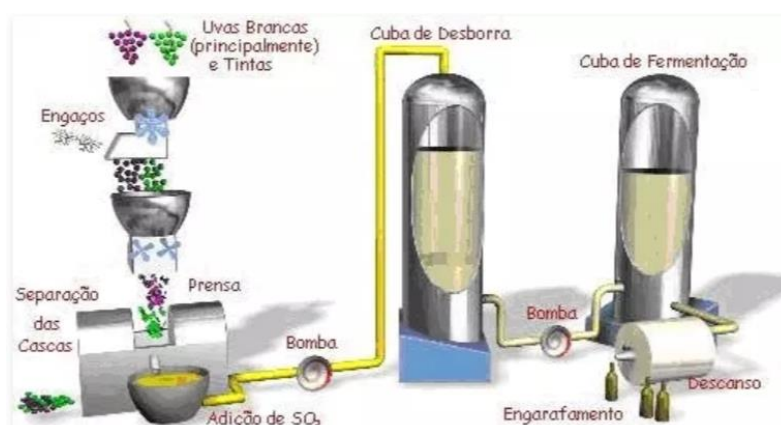


Figura 2. 4. Produção de vinho branco [8].

2.1.1 Vinho branco

Os vinhos brancos têm um aspeto límpido e cor amarela clara ou amarela mais escura (amarelo palha). São muito suaves e aromáticos (flores e frutos) [9]. Na sua produção, podem ser usadas tanto uvas brancas, quanto tintas, desde que as cascas não entrem em contacto com o mosto. Com exceção de alguns vinhos, em que a cor dos vinhos é obtida através de pigmentos naturais encontrados na casca da uva, extraídos antes da fermentação [10].

No sentido de exemplificar essa categoria de vinhos da *SBG*, pode-se recorrer ao Monte Sacro Branco que é um vinho jovem de cor citrina e aroma fresco. A sua ficha técnica encontra-se no anexo A.1.

2.1.2 Vinho tinto

O vinho tinto obtém-se a partir da fermentação de uvas tintas, com maceração (contato entre as cascas e o mosto). As cores vão do vermelho rubi ao vermelho mais escuro. Os tintos jovens são suaves, muito aromáticos e, normalmente, de sabor delicado. Os tintos envelhecidos têm um aroma intenso, são aveludados (textura macia na boca) e um teor alcoólico elevado (encorpados) [9]. A diferença na tonalidade do vinho depende da casta, da idade do vinho, e do método de envelhecimento.

A *SBG* tem vários vinhos tintos, por exemplo, o Monte Sacro Tinto é um vinho jovem de cor rubi e aroma frutado. A sua ficha técnica encontra-se no anexo A.2.

2.1.3 Sangria - *Vini*

As sangrias são bebidas com base de vinho tinto ou branco. Também existem variedades com o espumante ou outras bebidas alcoólicas. A *Vini* é a marca registada de sangria tinta ou branca, à pressão, da *SBG*. É uma bebida fácil de beber e equilibrada, caracterizando-se pelo intenso sabor a fruta, frescura, baixo grau de acidez e cor viva [11]. Por exemplo, a *Vini Tinta*, tem nos seus ingredientes vinho tinto, água, açúcar, dióxido de carbono, aroma natural de limão, acidificante (E330), estabilizadores (E414 e E445), edulcorante (E950), conservante (E202) e aroma natural de canela. As fichas técnicas da *Vini Tinta* e *Vini Branca* encontram-se no anexo A.3 e A.4.

2.2 Espetrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier

A espetrometria estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria, e está associada ao estudo dos níveis de energia de átomos ou moléculas. As transições eletrónicas estão situadas na região do ultravioleta ou visível, da radiação eletromagnética, as vibracionais na região do infravermelho (IV) e as rotacionais na região do micro-ondas [12].

A espectroscopia IV baseia-se no facto das ligações químicas possuírem frequências de vibração específicas quando expostas à radiação IV, que correspondem a transição entre os níveis de energia das moléculas, os níveis vibracionais [5]. Os modos de vibração molecular são de alongamento e de flexão, que variam de acordo com a forma da superfície da energia potencial, da geometria molecular, das massas dos átomos e até do acoplamento de vibrações - figura 2.5.

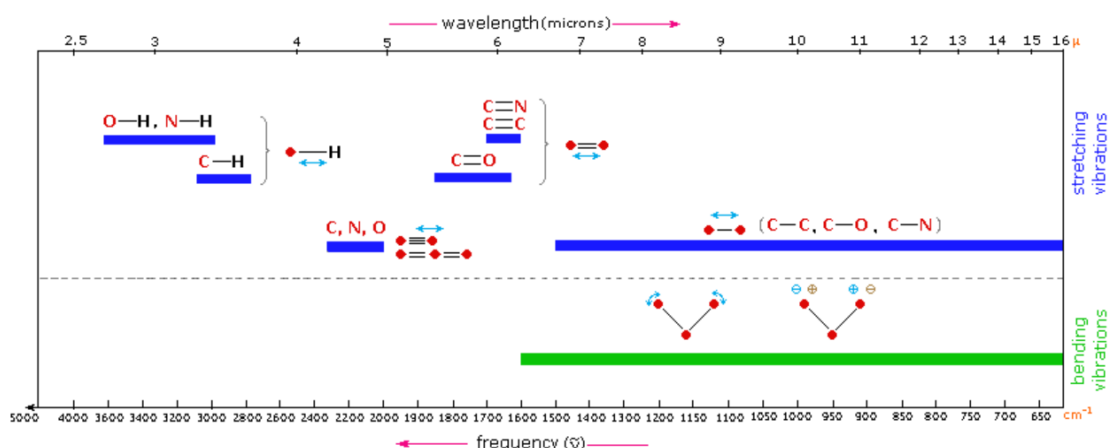


Figura 2. 5. Vibrações moleculares, de alongamento – stretching, e de flexão – bending, no IV [16].

A região IV vibracional encontra-se em comprimentos de onda de 2 500 a 25 000 cm, correspondendo a números de onda de 4 000 a 400 cm^{-1} . O espectro IV de uma amostra pura pode ser descrito como uma característica de impressão digital molecular de um produto químico específico ou substância bioquímica, pois, não existem dois espectros iguais. Na figura 2.6, pode-se ver um exemplo de um espectro IV obtido para uma amostra.

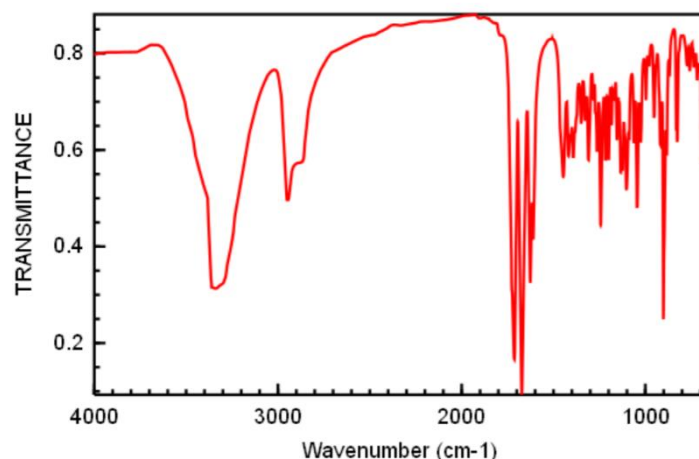


Figura 2. 6. Espectro IV para uma aplicação na farmacologia [13].

Os espectrómetros de IV com transformada de Fourier (FTIR) não apresentam nenhum elemento dispersivo e todos os comprimentos de onda são detetados e medidos simultaneamente. Em vez de um monocromador, é usado um interferómetro de *Michelson* para produzir padrões de interferência que contêm a informação espectral do IV. A figura 2.7 demonstra o diagrama de um FTIR tradicional. Este consiste numa fonte de luz, um espelho estacionário, um espelho móvel, um divisor de feixe e um detetor [15].

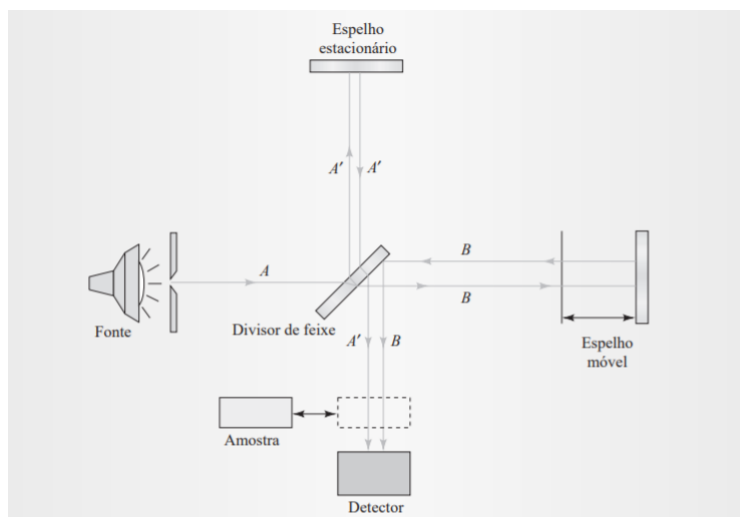


Figura 2. 7. FTIR tradicional [15].

Para se obter a potência radiante em função do comprimento de onda, o interferómetro modula o sinal da fonte de maneira que este possa ser decodificado por um algoritmo, a *Transformada de Fourier*. A maioria dos espectrómetros de bancada *FTIR* são de feixe único. Para se obter o espectro da amostra, primeiro obtém-se um espectro do fundo (*background*) (solvente, água presente no ambiente e dióxido de carbono). Depois, consegue-se o espectro da absorvância (ou transmitância) versus o comprimento de onda da amostra, subtraindo o espectro do fundo. Frequentemente, os instrumentos de bancada

purgam o espectrómetro com um gás inerte ou ar seco, livre de CO₂, para reduzir a absorção de vapor de água e CO₂ de fundo [15].

O FTIR é um equipamento que aplica técnicas não destrutivas que fornecem informações sobre características moleculares de uma ampla gama de compostos. As suas principais vantagens são a elevada velocidade de funcionamento, um alto grau de automação, boa relação custo-efetividade, elevada razão sinal/ruído, elevada exatidão, resolução e elevada sensibilidade. A técnica de FTIR é apta para a indústria de vinhos, dado a rapidez da sua resposta e a capacidade de fazer uma análise simultânea de vários parâmetros em uma amostra, com o consumo mínimo de reagentes e preparação de amostra fácil, após uma calibração prévia do equipamento. A matriz de amostras é adequada para este tipo de análise, pois contém vários compostos na forma molecular e iónica capazes de absorver energia de comprimentos de onda na gama dos IV e UV/Vis. Estas características do FTIR adequam-se à realização do controlo do processo desde o início da maturação de uva até ao engarrafamento do produto acabado. Através da integração dos espectros e recorrendo a retas de calibração definidas com vinhos padrão, é possível determinar com exatidão a concentração dos vários compostos que caracterizam a amostra, obtendo através de uma única metodologia, certos parâmetros físico-químicos que qualificam este produto [14].

O uso de FTIR na área da enologia é um método muito promissor e começa a ser bastante utilizado na determinação de vários parâmetros físicos e químicos. Desta forma, tornou-se numa alternativa sustentável aos métodos de análise convencionais, quer para a análise dos compostos orgânicos, quer dos inorgânicos. Através da lei Beer-Lambert, sabe-se que a concentração do composto a determinar é diretamente proporcional à absorvância num determinado comprimento de onda. No entanto esta relação é afetada pela presença de todos os restantes compostos que absorvem radiação nesse mesmo comprimento de onda. Por isso, é necessário um instrumento capaz de medir múltiplos comprimentos de onda para compensar as interferências. Deste modo, o valor analítico dos parâmetros a determinar é obtido por aplicação de um algoritmo ao modelo espectral de resposta, em que as contribuições de interferentes são compensadas. Por isso, existe a necessidade de fazer calibrações analíticas específicas, através da quantificação dos

parâmetros a analisar por métodos clássicos. O uso da quimiometria⁵ para calibração, validação e comparação dos principais constituintes que se pretende determinar no vinho é indispensável [5].

2.3 Parâmetros analíticos

Os vinhos são produtos de consumo humano, pelo que existe um controlo rigoroso da qualidade dos seus parâmetros, de modo a estarem dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Na tabela 2.1, estão apresentados alguns dos parâmetros, que foram estudados no âmbito deste trabalho – o teor alcoólico, a acidez volátil, a acidez total e o teor de açúcares redutores, e os respetivos limites legais. No caso de acidez volátil, os limites para o vinho branco e vinho tinto têm valores diferentes.

Tabela 2. 1. Valores limite para os parâmetros de teor alcoólico, acidez volátil acética, acidez total tartárica, açúcares redutores e o respetivo regulamento jurídico.

Parâmetro	Limite	Regulamento Jurídico
Teor alcoólico [18]	$\geq 9 \text{ \% (v/v)}$	Reg. (CE) nº 491/2009, Anexo III – 1 a)
Acidez volátil [19]	$< 1,08 \text{ g ác. acético /dm}^3 \text{ vinho branco}$	Reg. (CE) nº 606/2009, Anexo I C- 1 b
	$< 1,2 \text{ g ác. acético /dm}^3 \text{ vinho tinto}$	Reg. (CE) nº 606/2009, Anexo I C- 1 c
Acidez total [18]	$> 3,5 \text{ g ác. tartárico/dm}^3$	Reg. (CE) nº 491/2009, Anexo III- 1 d)
Açúcares redutores [20]	$> 5 \text{ g/dm}^3$	Portaria 610/72, de 14 de outubro

Os parâmetros de massa volúmica e açúcares totais não têm limites estabelecidos pela legislação.

⁵ Aplicação de métodos matemáticos ou estatísticos em dados de origem química.

2.3.1 Teor alcoólico

O teor alcoólico é um dos fatores mais relevantes da qualidade de vinhos, quer pela sua origem (a fermentação alcoólica dos mostos, por ação das leveduras, constituiu a forma mais direta e precisa de caracterizar a vinificação) quer pela influência direta ou indireta que exerce nas características organoléticas dos vinhos, e ainda, pelo seu poder conservativo [23].

O teor alcoólico de uma bebida define-se, como o volume medido em (dm^3) de álcool etílico contido em 100 dm^3 da bebida, sendo estes dois volumes medidos à temperatura de 15°C ou 20°C [15].

Depois da água, que representa cerca de 85 a 90% do volume do vinho, o etanol é o constituinte em maior abundância, variando entre 9 a 14%. O glicerol é o segundo álcool em concentrações mais elevadas - entre 5 a 20 g/dm^3 . O 2,3-butanodiol está presente nos vinhos em quantidades entre $0,3$ e $1,35 \text{ g/dm}^3$. Existem outros polióis, álcoois poli-hidroxilados resultantes das aldoses, também presentes no vinho, mas em quantidades muito inferiores, como é o caso do arabitól, do manitol e sorbitol [22]. Na tabela 2.2 encontra-se um resumo de álcoois mais representativos no vinho.

Tabela 2. 2. Álcoois mais representativos no vinho [7].

Fórmula	Álcoois	Concentração no vinho
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Etanol	$40 - 130 \text{ g/dm}^3$
$\text{OH-CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{-OH}$	Glicerol	$5 - 20 \text{ g/dm}^3$
$\text{H-CH}_2\text{OH}$	Metanol	$8 - 269 \text{ mg/dm}^3$
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	1-Propanol	$5 - 125 \text{ mg/dm}^3$
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	1-Butanol	$0,003 - 8,5 \text{ mg/dm}^3$
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3\text{-CH-CH}_2\text{OH} \end{array}$	2-Metil-propan-1-ol	$9 - 174 \text{ mg/dm}^3$
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{OH} \end{array}$	2-Metil-butan-1-ol	$87 - 564 \text{ mg/dm}^3$
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3\text{-CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH} \end{array}$	3-Metil-butan-1-ol	$87 - 564 \text{ mg/dm}^3$
$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$	2-Fenil-etanol	$4 - 197 \text{ mg/dm}^3$
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_2\text{OH}$	Hexanol	$0,3 - 12 \text{ mg/dm}^3$

De forma a cumprir os requisitos legais e garantir a qualidade dos produtos foram estabelecidos limites inferiores especificados (LIE) e superiores especificados (LSE), tal como o valor alvo do teor alcoólico nos produtos de vinho e sangria da SBG – tabela 2.3.

Tabela 2. 3. Limite inferior especificado (LIE), superior especificado (LSE) e o valor alvo do teor alcoólico nos produtos de vinho branco e sangria da SBG, em %(v/v).

Produto	LIE (% v/v)	Alvo (% v/v)	LSE (% v/v)
Vinho Branco	9,5	10,0	10,5
Sangria Branca	6,5	7,0	7,5
Sangria Tinta	6,5	7,0	7,5

O teor alcoólico em vinhos é, convencionalmente, determinado pela análise da mistura hidroalcoólica do destilado. Deste modo, o procedimento engloba duas etapas – a destilação e a análise do destilado. A destilação é uma técnica de separação de misturas de líquidos, que se baseia nas diferenças de pressão de vapor dos seus componentes. Durante a destilação ocorre o aquecimento do vinho até o seu ponto de ebulição e uma condensação posterior dos vapores libertados. O vapor em equilíbrio com o líquido contém uma percentagem maior do componente mais volátil, neste caso, do etanol [24]. A norma NP 2143 recomenda a análise do destilado por aerometria. Esta análise baseia-se na medição da densidade do etanol presente na mistura hidroalcoólica e, como, o álcool é menos denso do que a água, significa que a variação da sua densidade, em relação à água, está diretamente correlacionada com o volume de álcool presente. A escala do alcoómetro mostra qual é o teor alcoólico da amostra em %(v/v) [25].

2.3.2 Acidez volátil acética

A acidez volátil é caracterizada essencialmente pelo teor de ácido acético e um dos seus derivados, o acetato de etilo, e por pequenas quantidades de ácido propiónico, de ácido butírico e dos seus ésteres. É sobretudo o acetato de etilo que desnatura os vinhos. O ácido acético representa mais de 90% dos ácidos voláteis, forma-se durante a fermentação alcoólica e malo-láctica. Pode ocorrer a formação de teores anormalmente elevados por ação de bactérias lácticas na decomposição de açúcares, ácido tartárico ou glicerol ou por ação de bactérias acéticas com oxidação do etanol.

Durante o envelhecimento dos vinhos, o ácido acético pode ser produzido por via química. O seu cheiro a azedo é perceptível a baixas doses ($0,5 \text{ g/dm}^3$), sendo a causa do azedume e de uma má conservação. A figura 2.8 demonstra uma escala de depreciação do vinho em função do seu teor de acidez volátil [19, 23]. O amarelo representa os LIE e LSE para o vinho branco, o verde para a sangria branca e o vermelho para a sangria tinta, estabelecidos pela SBG. Os valores exatos dos limites estabelecidos podem ser vistos na tabela 2.4. Como se pode verificar, independentemente do tipo de amostra, todos os intervalos de limite englobam os mesmos fenómenos possíveis de ocorrer.

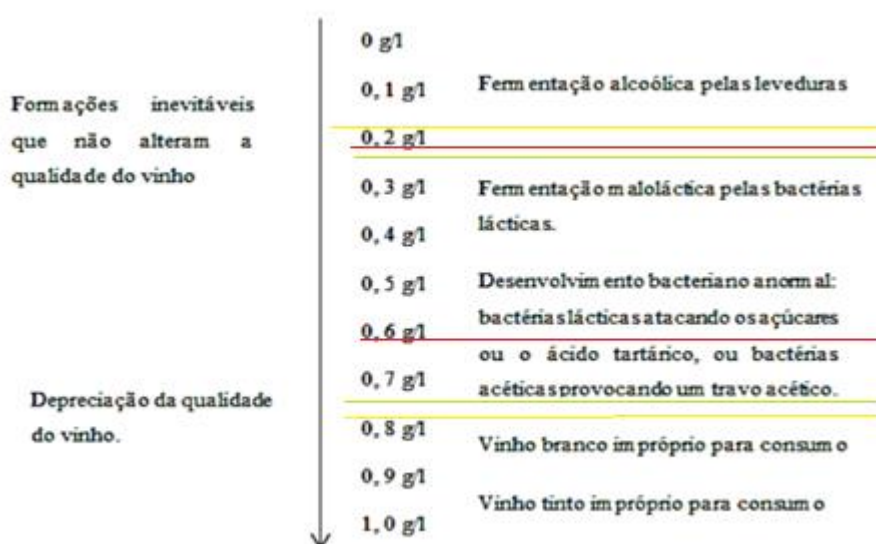


Figura 2. 8. Escala de depreciação do vinho em função do seu teor de acidez volátil [23]. A amarelo – intervalo de limites para o vinho branco, a verde – para a sangria branca, a vermelho – para a sangria tinta.

A determinação da acidez volátil torna-se importante por constituir uma fonte de informação sobre o estado sanitário do vinho e da gravidade das alterações que este sofre [23].

Tabela 2. 4 Limite inferior especificado (LIE), superior especificado (LSE) e o valor alvo da acidez volátil (g/dm^3) nos produtos de vinho branco e sangria da SBG.

Produto	LIE (g/dm^3)	Alvo (g/dm^3)	LSE (g/dm^3)
Vinho Branco	0,18	0,48	0,78
Sangria Branca	0,24	0,48	0,72
Sangria Tinta	0,20	0,40	0,60

Convencionalmente, a acidez volátil é determinada através da titulação dos ácidos voláteis, separados do vinho por arrastamento com vapor de água e retificação de vapores. O método estudado neste trabalho, teve por base os procedimentos internos da *SBG* que, por sua vez, utilizam a norma NP 2140 como referência [26].

2.3.3 Acidez total tartárica

A uva é pobre em ácido cítrico, mas contém quantidades significativas de ácido málico e, fundamentalmente, de ácido tartárico. Por esta razão a acidez total do vinho é medida em g/dm^3 de ácido tartárico. A acidez total representa a disponibilidade potencial de iões H^+ , parâmetro determinante para algumas operações tecnológicas e avaliação sensorial. A acidez total é definida como a soma dos ácidos tituláveis quando se leva o pH a 7 por adição de uma solução alcalina titulada. O dióxido de carbono não está incluído na acidez total. O ácido tartárico sendo o principal ácido constituinte da uva e do vinho, define o pH e dá maior resistência ao ataque bacteriano. A sua concentração é alta no começo do processo e deve diminuir quando a bebida prosseguir para a etapa de engarrafamento [24, 25].

Para as amostras de sangria branca e tinta foi estabelecido o LIE de $3,0 \text{ g/dm}^3$, o LSE de $5,0 \text{ g/dm}^3$ e o alvo é de $4,0 \text{ g/dm}^3$. No caso do vinho branco, não existe um valor de referência, para além do indicado pelo regulamento ($> 3,5 \text{ g/dm}^3$).

Convencionalmente, o teor de acidez total tartárica determina-se recorrendo a uma titulação com uma solução alcalina [27].

2.3.4 Açúcares redutores e totais

Os açúcares são, normalmente, reconhecidos como hidratos de carbono, devido à sua fórmula química, que contém átomos de carbono, hidrogénio e oxigénio. O seu nome também indica que, têm afinidade com a água, são moléculas hidrofílicas com solubilidade elevada. Para além disso, são compostos altamente funcionais, por exemplo, podem funcionar como precursores de ácidos orgânicos. Na indústria vinícola, a legislação em vigor, divide os açúcares em duas grandes categorias – açúcares redutores e açúcares totais [22].

O grupo de açúcares totais é caracterizado pelas frutose e glucose. Enquanto que, o grupo de açúcares redutores engloba a frutose, a glucose, a sacarose e outros açúcares residuais não fermentescíveis (D-galactose, Larabinose; D-xilose, D-ribose, L-ramnose, etc). Durante a maturação das uvas ocorre, naturalmente, a transformação da sacarose em glucose e frutose, sendo que no início, a quantidade de glucose é maior, e depois esta razão inverte. As causas desta inversão são, atualmente, desconhecidas. Desta forma, em um vinho produzido a partir de uvas com boa qualidade, a concentração da sacarose deve ser próxima de zero, a sua adição posteriori é proibida pela legislação mundial. Assim, dos açúcares existentes no vinho, a glucose e a frutose são as hexoses mais abundantes. Na figura 2.9 encontra-se representada a sua estrutura. Os açúcares redutores podem ser transformados em álcool por ação das leveduras (hexoses) ou podem não ter qualquer poder fermentativo, mas, no entanto, sofrerem ataques por parte das bactérias o que confere aos vinhos o travo láctico (pentoses). A determinação do teor de açúcares é realizada, frequentemente, para conhecer o fim da fermentação e para realizar o controlo de qualidade do vinho [7, 23].

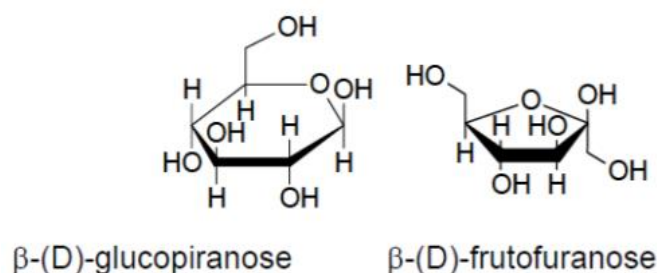


Figura 2. 9. Estrutura de glucose (β -(D)-glucopiranosose) e frutose (β -(D)-frutofuranose).

O conhecimento do teor de açúcares do vinho para além do interesse tecnológico e sensorial é fundamental para as menções indicativas do teor de açúcares que figuram na rotulagem (Reg. (CE) nº 607/2009, Anexo XIV). Atualmente, a legislação, define limites para o teor de açúcares redutores e para a concentração da sacarose. Embora esta esteja incluída no teor de açúcares redutores, a sua concentração deve ser rigorosamente controlada e não pode exceder $0,6 \text{ g/dm}^3$, no caso de vinhos tintos. Durante o período de estágio, não foi estudado o parâmetro da sacarose, no entanto, a sua concentração foi indiretamente controlada através da diferença entre o teor de açúcares totais e redutores.

A SBG definiu o LIE de 9 g/dm^3 , o alvo de 10 g/dm^3 e o SIE de 11 g/dm^3 para o teor de açúcares redutores. No caso das amostras de sangria, não existe um limite definido para este parâmetro.

O teor de açúcares redutores é, convencionalmente, determinado pelo método de Luff-Schoorl, segundo o qual, os açúcares redutores são constituídos pelo conjunto de açúcares de função cetónica ou aldeídica doseados pela sua ação redutora sobre a solução cupro-alkalina. O teor de açúcares totais pode ser determinado através da norma NP 2224 e engloba duas etapas fundamentais – a inversão dos açúcares por hidrólise clorídrica e a sua determinação posterior pelo método de Luff-Schoorl [28, 29].

2.3.5 Massa volúmica

A massa volúmica é o quociente entre a massa de um determinado volume de vinho ou de mosto, a 20°C , e esse volume. Pode ser determinada por aerometria, como método clássico (NP 2142). No caso dos mostos, o equipamento, normalmente, usado é o mostímetro. Este parâmetro é influenciado pela presença de dióxido de enxofre, quanto mais elevado é o seu teor, mais elevada é a massa volúmica. Se a amostra contém elevadas quantidade de dióxido de carbono, é necessário desgasificá-la, de modo a eliminar as possíveis interferências que podem originar desvios nos resultados [30].

Não existe nenhum limite definido para este parâmetro, mas sabe-se que as amostras de vinho e de sangria são, constituídas, maioritariamente por água, ou seja, a sua densidade deve ser próxima de $1,00 \text{ g/cm}^3$. Este valor pode baixar, devido à presença de álcool nas amostras, cuja densidade é de $0,789 \text{ g/cm}^3$, à temperatura de 20°C .

2.4 Avaliação do método

Durante a implementação dos métodos de análise no FTIR, recorreu-se ao Guia 13 do Relacre [31]. O Guia indica que o primeiro passo na validação e implementação de métodos é a sua descrição e caracterização detalhada. Este passo foi concretizado, embora não apresentado no presente relatório, uma vez que se trata de um documento interno da empresa.

2.4.1 Curvas de calibração

Em análises quantitativas, a calibração indica um processo pelo qual a resposta de um sistema de medição se relaciona com uma concentração. Em métodos instrumentais de análise, normalmente, são seguidos os seguintes passos [31]:

- Preparação de soluções-padrão com concentração conhecida;
- Medição das soluções-padrão num equipamento analítico, nas mesmas condições das amostras a analisar;
- Construção de um gráfico de calibração e determinação da concentração das amostras, por interpolação.

É necessário definir, internamente, os critérios para a aceitação das curvas de calibração. O laboratório deve definir a validade da curva traçada, através da sua estabilidade, confirmada pelo histórico. As curvas de calibração devem distribuir-se equitativamente pela gama de trabalho do método. Quando uma curva de calibração é uma função de polinomial de primeiro grau, ou seja, uma reta, a sua forma algébrica é dada pela equação 2.1 [31].

$$y = m * x + b \quad \text{(Equação 2.1)}$$

Onde, “m” representa o declive da reta e o “b” a ordenada na origem. O laboratório deve, também, definir o eixo vertical (eixo y) e o horizontal (eixo x). Um dos parâmetros utilizados para a avaliação de uma calibração é o coeficiente de correlação – R, que mede o grau da correlação entre duas variáveis numa escala métrica. Neste trabalho foi adotado um valor mínimo de R de 0,995, para a classificação de uma reta como aceitável.

2.4.2 Limiares analíticos

Dentro dos limiares analíticos estudados encontram-se o limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ). O LOD é o teor mínimo medido, a partir do qual é possível detetar a presença do analito com uma certeza estatística razoável, mas não, necessariamente, quantificar como valor exato. Uma leitura inferior ao LOD não significa a ausência do analito, apenas que é inferior a um certo valor. Nos casos, em que o método envolve uma calibração linear, o LOD é calculado pela equação 2.2 [31].

$$LOD = \frac{3,3 * S(y/x)}{b} \quad \text{(Equação 2.2)}$$

Onde $S(y/x)$ é o desvio-padrão residual da curva de calibração. Este desvio-padrão exprime a dispersão dos valores do sinal instrumental em torno da curva de calibração e pode ser calculado pela equação 2.3 [31].

$$S(y/x) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N [y(i) - (b + m * x(i))]^2}{N - 2}} \quad \text{(Equação 2.3)}$$

Onde:

- $y(i)$ – valores individuais de y ;
- $x(i)$ - valores individuais de x ;
- N – número de pontos marcados na reta de calibração;

O LOQ corresponde à menor concentração medida a partir da qual é possível a quantificação do analito, com uma determinada exatidão e precisão. Corresponde, normalmente, ao padrão de calibração de menor concentração. Este limiar, após ter sido determinado, deve ser testado para averiguar se a exatidão e precisão conseguida é satisfatória. Quantitativamente, o LOD é determinado pela equação 2.4. no caso de uma calibração linear [31].

$$LOQ = \frac{10 * S(y/x)}{b} \quad \text{(Equação 2.4)}$$

2.4.3 Repetibilidade e Precisão Intermédia

A repetibilidade é definida como a precisão de um método de ensaio efetuado em condições idênticas [31]:

- ✓ Mesmo laboratório;
- ✓ Mesmo analista;
- ✓ Mesmo equipamento;
- ✓ Mesmo tipo de reagentes;
- ✓ Curtos intervalos de tempo.

Para determinar a repetibilidade de um método efetuam-se uma série de medições (>10) sobre uma mesma amostra ou padrão, em condições de repetibilidade. Caso seja necessário, o procedimento é repetido sobre uma série de amostras, em vários níveis de concentração. O limite de repetibilidade – “r” – é o valor abaixo do qual se deve situar, com uma probabilidade de 95 %, a diferença absoluta entre dois resultados de ensaio – equação 2.5 [31].

$$|X_i - X_{i-1}| \leq r \quad \text{(Equação 2.5)}$$

Para uma confiança de 95 %, o “r” é determinado segundo a equação 2.6.

$$r = 2,8 * \sqrt{S(r)}^2 \quad \text{(Equação 2.6)}$$

Onde:

- S(ri) – desvio-padrão de repetibilidade associada aos resultados considerados.

A precisão intermédia é definida como a precisão avaliada, sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório ou em laboratórios diferentes, mas definindo exatamente as condições a variar. A precisão intermédia é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados. Para a sua determinação realizam-se “n” medições em replicado, duplicado ou em ensaio único

sobre a amostra, nas condições pré-definidas. Este parâmetro pode ser avaliado através da determinação do desvio-padrão da precisão intermédia – equação 2.7.

$$S(i) = \sqrt{\frac{1}{t(n-1)} * \sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y(jk) - \overline{y(j)})^2} \quad \text{(Equação 2.7)}$$

Onde:

- S(i) – desvio-padrão de precisão intermédia;
- t – número de amostras ensaiadas;
- n – número de ensaios efetuados por amostra;
- j – número de amostra (de 1 a t amostras);
- k – número do resultado obtido para a amostra j;
- y (jk) – resultado individual da amostra j;
- y (j) – representa a média aritmética dos resultados da amostra j de 1 a t.

2.4.4 Veracidade

A veracidade dos métodos foi avaliada a partir da comparação dos resultados obtidos no FTIR e pelo método clássico respetivo. Os métodos clássicos utilizados foram baseados em normas portuguesas para a análise de vinho e no *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*.

A veracidade dos métodos foi avaliada através do erro relativo, cujo cálculo encontra-se apresentado na equação 2.8 [31].

$$Er = \frac{(X_{exp} - X_v)}{X_v} * 100 \quad \text{(Equação 2.8)}$$

Onde:

- Er – erro relativo em percentagem;
- Xexp – valor obtido experimentalmente (no FTIR);
- Xv – valor aceite como verdadeiro (método clássico).

O erro relativo avalia a veracidade do método e exprime a componente dos erros sistemáticos. No caso do presente estudo, foi adotado um valor de $\pm 5\%$ como um resultado satisfatório de erro relativo, mas o valor de 10% considerou-se como aceitável, embora não desejável [31].

3. Materiais e Métodos

O método descrito neste trabalho destina-se à determinação do teor alcoólico, acidez volátil, acidez total, teor de açúcares totais e redutores nas amostras de vinho branco e sangria, recorrendo a um espectrómetro de FTIR.

3.1 Equipamento e material

Para a determinação dos parâmetros pretendidos utilizou-se o FTIR, de marca e modelo *Bacchus 3 Thermo Scientific Nicolet iS5*. A figura 3.1 representa uma fotografia do equipamento equipado com o amostrador automático, com a capacidade para 117 tubos. O equipamento possui dois tipo de software – o *Omnic* para a aquisição de espectros e o *Bacchus* para a análise quantitativa das amostras.



Figura 3. 1. Bacchus 3 Thermo Scientific Nicolet iS5 FTIR.

O equipamento utilizado neste trabalho pode ser aplicado para [32]:

- Controlo de maturidade;
- Análise do mosto e mosto fermentado;
- Análise de vinhos acabados (vinhos doces espumantes, secos, doces e naturais).

Este equipamento é capaz de realizar a análise dos seguintes parâmetros:

- Teor alcoólico, densidade, extrato seco;
- Açúcares (reduzíveis, totais, sacarose);
- Acidez total, acidez volátil, pH;
- Ácidos orgânicos: acético, málico, láctico, tartárico, glucónico, succínico, sórbico;
- Glicerol, SO₂ total, CO₂, butanodiol, acetato de etilo;
- Azoto assimilável, α -amino e amónia, potássio, antocianos e taninos;
- Intensidade e tonalidade da cor.

É necessário ter certos cuidados na sua utilização e manutenção, dado a elevada sensibilidade a fatores externos. A ficha técnica indica que, na mesma bancada não devem ocorrer vibrações de outros equipamentos de laboratório, condicionadores de ar, exaustores ou motores elétricos. O instrumento deve ficar, pelo menos, a uma distância de 5,5 m de fontes magnéticas. A humidade ambiente deve estar contida entre 20% e 75%. De um modo geral, este tipo de equipamentos não suporta humidades elevadas, assim, deve ficar longe de torneiras, banhos de água e outras fontes possíveis de humidade. Deve-se evitar eletricidade estática e a temperatura da área de trabalho tem de ser constante e na gama de 15°C a 35°C. Também é recomendado realizar a verificação da performance (PV) mensalmente. A PV confirma o correto funcionamento do sistema, executa um alinhamento e verifica a calibração dos números de onda através de um laser. Este teste não precisa de uma amostra ou de nenhum acessório instalado [32].

Durante o período de estágio foram aplicados alguns dos métodos convencionais, nomeadamente a determinação do teor alcoólico, da massa volúmica e da acidez total. Na determinação do teor alcoólico foi utilizada uma instalação de destilação por arraste de vapor, como a exemplificada na figura 3.6. Na análise deste parâmetro utilizou-se um alcoómetro (figura 3.2), o equipamento *Anton Paar* e o densímetro digital (unidade de medição de densidade do *Anton Paar*).



Figura 3. 2. Exemplo de alcoómetro utilizado para a medição de %(v/v) de álcool no destilado [33].

O *Anton Paar* (Anton Paar DMA 4500 – figura 3.3) é um equipamento automático para a análise de cerveja que utiliza o método de espectroscopia NIR para a determinação do teor alcoólico, enquanto que o FTIR utiliza a gama MIR. Para além da análise do teor alcoólico e densidade, o *Anton Paar* realiza as determinações de extrato primitivo, real e aparente, grau de fermentação, pH e coloração, nas amostras de cerveja. A unidade de densímetro é verificada com água ultrapura, a 20 °C (± 2). A verificação da medição do teor alcoólico é efetuada com amostras de etanol a 10,5 % (v/v), a 20 °C (± 2).



Figura 3. 3. Anton Paar DMA 4500 com a unidade da medição de álcool e densidade.

3.2 Reagentes e soluções

Durante a realização do presente trabalho foram utilizados diversos tipos de reagentes, cuja preparação e finalidade são descritas neste capítulo.

No processo de utilização do equipamento são usadas três soluções – a solução de lavagem, a solução de background e a solução de lixívia. A sua constituição pode ser encontrada no anexo B.1.

A solução de background é utilizada para traçar o espectro de fundo antes da análise das amostras. A solução de lavagem é necessária para fazer a limpeza do circuito de fluídos. A limpeza do circuito é automática e realiza-se durante o processo de encerramento do equipamento. A solução de lavagem é colocada na posição “A” segundo a figura 3.4. A solução de lixívia é colocada na posição “B”, da figura 3.4 e é usada para a limpeza de seringa.

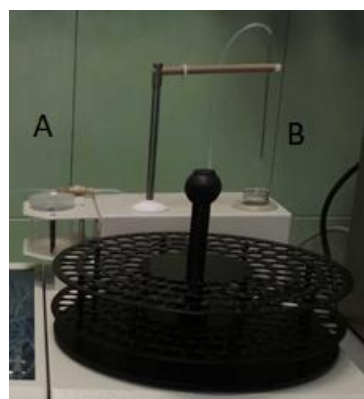


Figura 3. 4. Amostrador automático.

No processo da calibração de equipamento foram usados dois tipos de soluções-padrão – vinhos naturais e vinhos sintéticos. Os vinhos naturais padronizados foram adquiridos na Comissão de Vinhos Verdes e incluíam vinhos brancos, tintos e rosés. Estes vinhos padrão estavam padronizados para os parâmetros de teor alcoólico, massa volúmica, acidez tartárica total, acidez acética volátil e teor de açúcares totais. No total, para cada parâmetro, existiam 14 amostras. A tabela 3.1 apresenta a concentração dos respetivos parâmetros para cada amostra-padrão.

Os vinhos sintéticos, da marca TITRIVIN, estavam padronizados para os parâmetros de teor alcoólico, acidez tartárica total, acidez acética volátil, teor de açúcares totais e redutores. No total, existiam 5 soluções-padrão e a sua constituição pode ser vista na tabela 3.2. Estas soluções-padrão têm formato de uma ampola de dois lados e um volume de 10 mL. Para além dos parâmetros da tabela 3.2 encontravam-se padronizados para o pH, ácido acético, ácido L-málico e L-lático. Inicialmente existiam duas amostras de cada padrão e, fez-se a diluição de uma das amostras do padrão AA1, AA2 e AA5, para obter mais pontos para as retas de calibração. O principal foco desta diluição foi o parâmetro de álcool. A diluição fez-se com água desionizada. No caso de padrão AA1 e AA2 o esperado era o teor de 6,00 %(v/v) e para o padrão AA5 de 8,00 %(v/v). Entretanto, verificaram-se desvios no resultado lido e, desta forma, foi decidido não utilizar as soluções diluídas para não afetar as retas de calibração. As soluções-padrão TITRIVIN estavam acompanhadas com as fichas técnicas que podem ser consultados no anexo B.2. As incertezas associadas às respetivas concentrações podem ser vistas no mesmo anexo.

No decorrer do estágio foi utilizada água desionizada, purificada com o sistema de purificação de água *Elix Essentials*, obtendo-se água do tipo 2.

No caso da determinação da massa volúmica, apenas foi utilizada a amostra, sem qualquer tipo de reagente. Na determinação do álcool, foi utilizada a solução de hidróxido de cálcio de concentração 2 mol/dm^3 . A solução foi preparada a partir da solução-mãe da marca *Emsure*. No mesmo procedimento, também, se utilizou água desionizada na etapa da destilação e preparação dos reagentes. Durante a determinação de acidez total foi utilizada a solução de hidróxido de sódio, como titulante, de concentração $0,1 \text{ mol/dm}^3$, o indicador foi a solução de fenolftaleína. A solução de hidróxido de sódio foi preparada a partir da solução-mãe (32 %) da marca *Emsure*.

Tabela 3. 1. Concentração de teor alcoólico %(v/v), de massa volúmica (g/cm³), de açúcares totais (g/dm³), de acidez tartárica total (g/dm³) e de acidez acética volátil (g/dm³) para as soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes.

Padrão	%(v/v) Álcool	Massa Volúmica (g/cm ³)	Açúcares Totais (g/dm ³)	Acidez Total (g/dm ³)	Acidez Volátil (g/dm ³)
1	7,07	-	-	-	-
2	8,73	-	-	-	-
3	9,79	-	-	-	-
4	13,82	0,99092	7,40	-	-
5	-	-	4,10	8,61	-
6	-	0,99506	-	6,94	-
7	-	0,99321	8,80	-	0,34
8	-	0,99033	-	-	0,28
9	13,59	0,98857	-	-	0,41
10	10,65	0,99660	-	9,45	0,35
11	11,71	0,99410	-	6,68	0,33
12	-	0,99660	-	-	0,18
13	-	0,99168	-	6,56	0,17
14	-	0,98889	-	6,07	0,26
15	-	0,99034	-	5,5	-
16	10,60	0,99340	5,20	-	0,24
17	-	-	-	-	0,33
18	12,53	0,99372	-	7,48	0,27
19	-	-	-	6,41	0,51
20	10,06	-	8,60	-	0,39
21	13,45	-	-	8,27	-
22	10,06	0,99496	8,40	-	-
23	11,06	-	7,00	-	-
24	9,76	-	5,40	-	0,73
25	-	-	-	4,78	-
26	-	-	-	3,91	-
27	-	-	12,10	-	-
28	-	-	-	7,78	-
29	-	-	9,10	-	-
30	-	-	-	8,16	-
31	-	-	4,60	-	-
32	-	-	9,10	-	-
33	-	-	2,70	-	-
34	-	-	3,00	-	-

Tabela 3. 2. Concentração de teor alcoólico % (v/v), de açúcares totais e redutores (g/dm³), de acidez tartárica total (g/dm³) e de acidez acética volátil (g/dm³) para as soluções-padrão TITRIVIN.

Padrão	Álcool %(v/v)	Acidez Total (g/dm ³)	Acidez Volátil (g/dm ³)	Açúcares Redutores (g/dm ³)	Açúcares Totais (g/dm ³)
AA1	9,46	2,62	0,29	1,90	0,87
AA2	10,87	4,70	0,43	5,12	3,91
AA3	12,40	5,28	0,54	7,35	6,01
AA4	13,69	6,48	0,73	9,36	8,01
AA5	14,94	6,20	0,93	3,14	2,10

3.3 Amostras

Ao longo do estágio foram analisados vários tipos de amostras, entre as quais:

- Vinho de cisterna (vinho pré-preparado que chega em cisternas para a unidade fabril de Leça de Balio);
- Mosto;
- Vinho lote que se encontrava no tanque de receção - TRV;
- Vinho filtrado que foi ajustado e estava preparado para ir para a linha de enchimento - TVF;
- Vinho de barril (vinho em barril que se encontrava preparado para ser comercializado – figura 3.3).



Figura 3. 5. Barril de vinho branco.

No caso de sangria, é preparada através de TRV de vinho branco ou tinto, conforme o tipo de sangria que se pretende produzir. Existindo, assim, sangria TVF e sangria de barril.

Para além destas amostras, foram analisados vinhos de outras marcas que serão designados por “vinho tinto” ou “vinho branco”.

3.4 Procedimento experimental

Neste capítulo vai ser descrito o procedimento de utilização diária do FTIR e, também, dos métodos clássicos realizados.

3.4.1 Análise por FTIR

Primeiramente, é necessário verificar se as três soluções (de lavagem, de background e de lixívia) necessárias para o funcionamento normal do equipamento de encontram nos sítios respetivos. Depois de ligado o equipamento, é necessário traçar o espectro de fundo. Uma vez traçado o espectro pode-se começar a análise de amostras. A descrição detalhada do arranque do equipamento encontra-se descrita no anexo C.1.

Antes de colocar a amostra no amostrador, torna-se necessário retirar o gás carbónico contido. Para tal, primeiro filtra-se, por gravidade, a amostra através de um funil com filtro para um matraz e de seguida coloca-se no banho de ultrassons (*P Selecta*) durante 5 minutos, ou, recorre-se a agitação manual da amostra. Uma vez desgasificada a amostra, esta pode ser transferida para o tubo de ensaio e este é colocado no amostrador automático. Para começar a análise das amostras é necessário escolher o protocolo que o software *Bacchus* vai utilizar para a interpretação dos resultados. O respetivo protocolo contém os métodos para cada tipo de análise. Para terminar a análise e desligar o equipamento é necessário fazer a limpeza das tubagens e do sistema de purga.

Para além de PV mencionado no capítulo 3.1, recomenda-se a verificação da eficácia do equipamento sempre que se suspeitem desvios nos resultados ou depois de uma intervenção no circuito de fluídos. Este teste consiste na introdução de 8 amostras – duas de uma amostra de vinho aleatória e duas de água desionizada, mais duas de vinho e duas de água. O software *Bacchus* deve mostrar uma eficácia próxima de 100% para os parâmetros de álcool e/ou teor de açúcares.

O teste de repetibilidade é importante para a avaliação da capacidade do sistema de mostrar resultados consistentes com uma amostra única. Mostra a estabilidade da bancada ótica e dos componentes do circuito de fluidos (bomba peristáltica, válvulas de retenção, tubagens).

As causas possíveis de valores insatisfatórias de repetibilidade são:

- Vibrações;
- Variações de temperatura (por exemplo, espectrómetro diretamente exposto ao ar condicionado);
- Interferências de telemóveis;
- Válvulas com defeitos;
- Interferómetro instável, fonte de luz, laser ou detetor.

Para obter a repetibilidade foram colocadas 11 tomas de uma amostra de vinho no equipamento e, uma vez feita a medição, escolher a opção “repetibilidade” no software *Bacchus*.

No caso da determinação da repetibilidade, segundo o método recomendado pelo guia 13 da Relacre, foi selecionada uma amostra de vinho branco e uma de vinho tinto, das quais foram retiradas 11 tomas idênticas e estas foram analisadas num curto espaço de tempo. Desta forma, a repetibilidade foi estudada para dois tipos de amostras, obtendo-se dois conjuntos de valores.

Para a determinação da precisão intermédia, foram definidas duas condições principais que podem causar impacto considerável nos resultados obtidos. A primeira é o tipo de degaseificação das amostras – manual ou recorrendo a um ultrassons, e a segunda a é temperatura – ambiente ou cerca de 7°C (amostra tirada do frigorífico). O estudo foi feito para dois tipos de amostras – vinho branco e vinho tinto.

3.4.2 Análise por métodos clássicos

Para a validação dos resultados obtidos através do FTIR, recorreu-se a métodos clássicos para os parâmetros de teor alcoólico, massa volúmica e acidez total.

➤ Teor Alcoólico

A norma utilizada para a determinação de teor alcoólico foi a NP 2143 “Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor alcoólico em volume (grau alcoólico volumétrico)”. Primeiramente adicionaram-se 10 mL da solução de hidróxido de cálcio (ver capítulo 3.2) ao vinho, para neutralizar os ácidos voláteis que, caso contrário, seriam destilados em conjunto com o álcool etílico. Optou-se por utilizar a destilação por arraste de vapor, uma vez que é mais adequada para a extração de compostos voláteis, como é o caso de etanol. O esquema da instalação pode ser observado na figura 3.6. Embora na figura a solução pareça imiscível, na realidade não se observou uma separação de fases, o destilado foi recolhido em balão volumétrico de 250 mL. A destilação de uma amostra demorou cerca de duas horas e, no fim, o volume foi, no mínimo de 230 mL. O volume final foi aferido com água desionizada até 250 mL. Antes de começar a destilação, é necessário retirar todo o gás presente na amostra, através da agitação manual ou recorrendo a um ultrassons, sendo que, neste trabalho optou-se pela agitação manual.

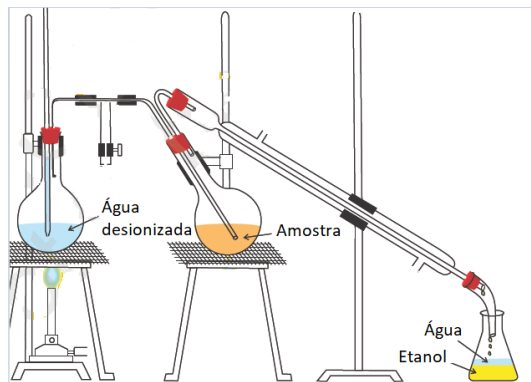


Figura 3. 6. Esquema da instalação da destilação de etanol presente no vinho por arraste de vapor.

Foram analisados 5 tipos de amostras – mosto de vinho tinto, vinho tinto, vinho branco, sangria tinta e branca.

Depois de se obter o destilado das amostras, o teor alcoólico foi medido por três processos – alcoómetro, densidade do solução e através de *Anton Paar*.

A medição com o alcoómetro é direta e consiste em mergulhá-lo numa proveta de 250 mL com o destilado, três vezes. Esta análise baseia-se na medição da densidade do etanol presente na mistura hidroalcoólica e, como, o álcool é menos denso do que a água, significa que a variação da sua densidade, em relação à água, está diretamente correlacionada com o volume de álcool presente. A escala do alcoómetro mostra qual é o teor alcoólico da amostra em %(v/v).

Para a medição da densidade do destilado utilizou-se um densímetro digital (unidade da medição de densidade de *Anton Paar* – figura 3.3) e a resposta foi dada em densidade absoluta, que posteriormente foi convertida para a densidade relativa e depois para a %(v/v) de álcool.

O *Anton Paar* foi utilizado para a determinação do teor alcoólico nas amostras de vinho e de sangria, com o objetivo de verificar a sua capacidade de análise deste tipo de amostras e para comparar a proximidade entre os resultados com o FTIR. No caso da análise do teor alcoólico, este equipamento determina-o em %(m/m) e, seguidamente, usa as expressões matemáticas internas para o transformar em %(v/v), desta forma, o equipamento também recorre a conversões através dos valores de densidade, que são medidos na unidade do densímetro digital.

➤ Massa Volúmica

A massa volúmica foi determinada através da unidade da medição de densidade de *Anton Paar*. Não foi realizada nenhuma preparação prévia da amostra para além da degaseificação. O densímetro apresenta o valor em densidade absoluta, que posteriormente foi convertido em densidade relativa. Foram analisados 3 tipos de amostras – vinho branco de barril, vinho branco de cisterna e vinho tinto.

➤ Acidez Total

A determinação da acidez total baseou-se na norma NP 2139 “Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de acidez total”. A análise deste parâmetro nas amostras de vinho realiza-se através de uma titulação. O titulante é o hidróxido de sódio de concentração 0,1 mol/L, o indicador é a solução de fenolftaleína. Antes de se proceder a análise, a amostra deve ser degasificada. Num volume de 10 mL de amostra, medido com uma pipeta volumétrica, colocam-se 3 gotas de indicador e titula-se até o aparecimento de uma cor rósea nos vinhos brancos ou uma cor verde nos vinhos tintos.

Foram analisados 3 tipos de amostras – vinho branco de cisterna, vinho tinto e vinho branco lote. A concentração, em g/L de acidez total tartárica, é calculada através da equação 3.1.

$$\text{Acidez Total Tartárica} = 0,75 * V (\text{NaOH}) \text{ [g/dm}^3\text{]} \quad \text{(Equação 3.1)}$$

4. Resultados e Discussão

Neste capítulo irão ser descritos os resultados obtidos durante o período da realização de trabalho. Os resultados apresentados foram escolhidos, considerando a sua importância para o tema estudado, os restantes ficaram registados e guardados pela empresa. Os resultados apresentados foram separados em duas categorias principais – referentes ao vinho e à sangria.

4.1. Espetros

Antes de começar uma corrida de amostras, é necessário traçar uma linha da base, ou espectro de fundo, com a solução de background. Um exemplo do respetivo espectro encontra-se representado na figura 4.1. É importante referir que, se a solução não se encontrar na quantidade mínima necessária, o equipamento vai lançar um aviso e não vai funcionar até se completar o volume da solução.

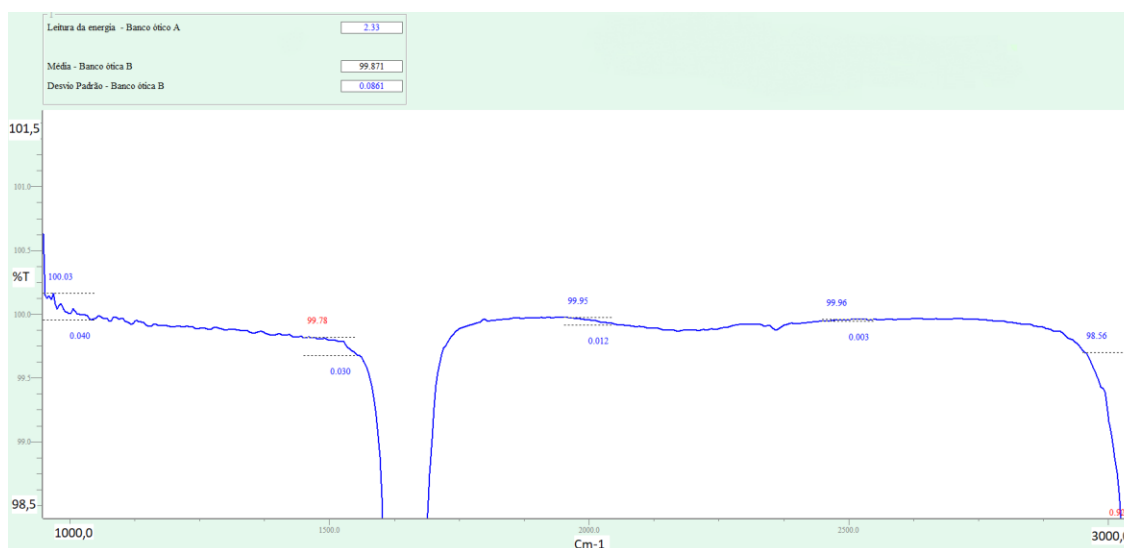


Figura 4. 1. Exemplo de um espectro de fundo (Transmitância (%) vs. Número de onda (cm^{-1})) obtido no FTIR.

Após o traçado do espectro de fundo, o software *Bacchus* apresenta os desvios dos bancos óticos e avalia-os com os limites estabelecidos no protocolo do equipamento. Caso estes excedam os limites, os valores irão aparecer a vermelho, o que significa que o equipamento está a detetar muito ruído e é necessário realizar o teste da determinação de eficácia para detetar o tipo de problema.

Para a quantificação das amostras, o software Bacchus utiliza os dados dos espectros traçados e os dados das curvas de calibração internas. O software utiliza, maioritariamente a zona de 3 000 a 800 cm^{-1} , um vez que na zona de 800 a 400 cm^{-1} existem muitos picos próximos entre si, o que dificulta a sua interpretação. A figura 4.2 exemplifica o espectro de uma solução-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, transmitância (%) em função do número de onda (cm^{-1}). No entanto, não é disponibilizada a informação sobre a fórmula e as bandas utilizadas na quantificação.

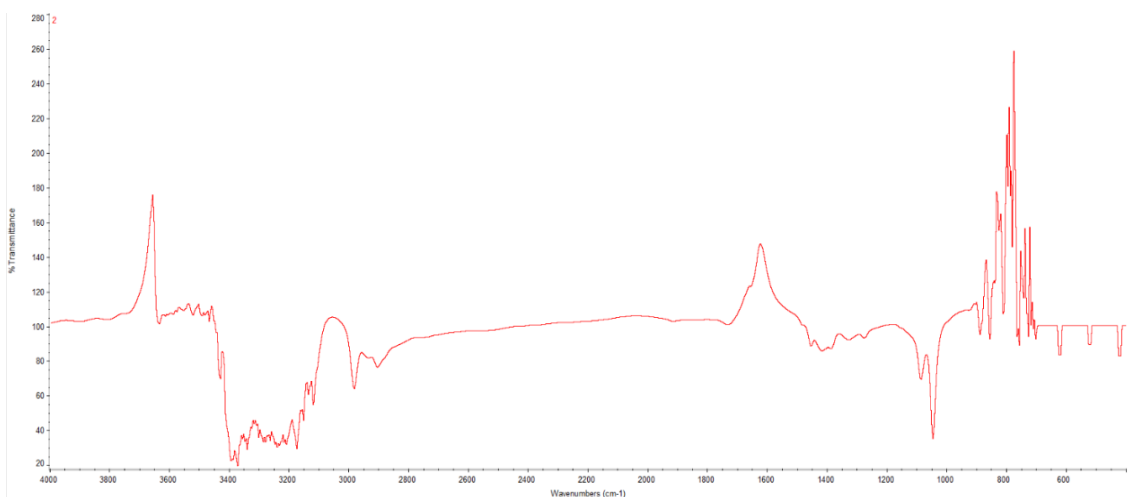


Figura 4. 2. Espectro de uma solução-padrão da Comissão de Vinhos Verdes (Transmitância (%) vs. Número de onda (cm^{-1})) [Escala vertical: 0 - 280 %; Escala horizontal: 4 000 - 400 cm^{-1}].

Na figura 4.3 encontra-se exemplificado um espectro de um vinho branco de barril. Pela comparação da figuras 4.2 e 4.3, pode-se afirmar que, os espectros apresentados, demonstram perfis dos picos diferentes. A figura 4.4 exemplifica o espectro do padrão de vinho sintético AA5.

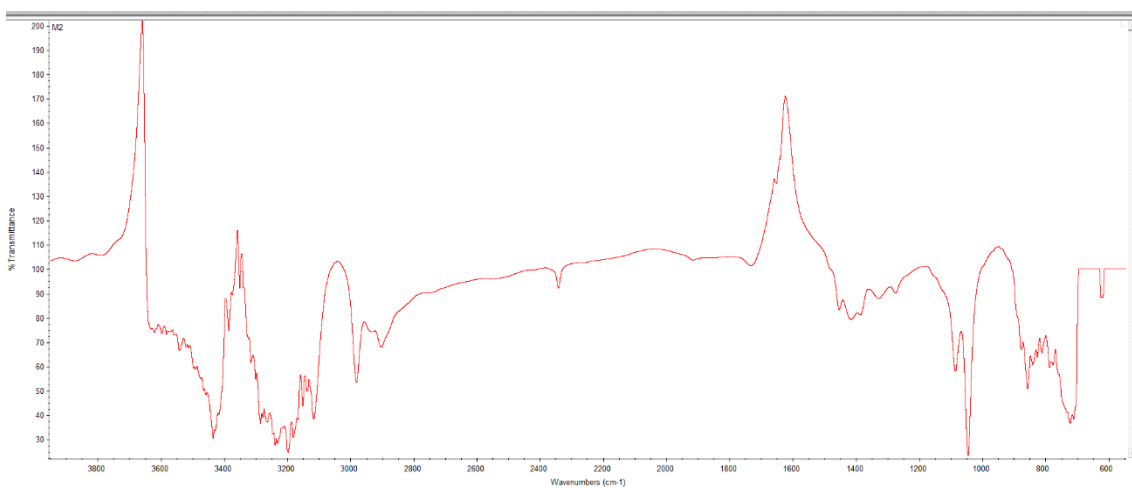


Figura 4. 3. Espectro de um vinho branco de barril [Escala vertical: 0 - 280 %; Escala horizontal: 4 000 - 400 cm^{-1}].

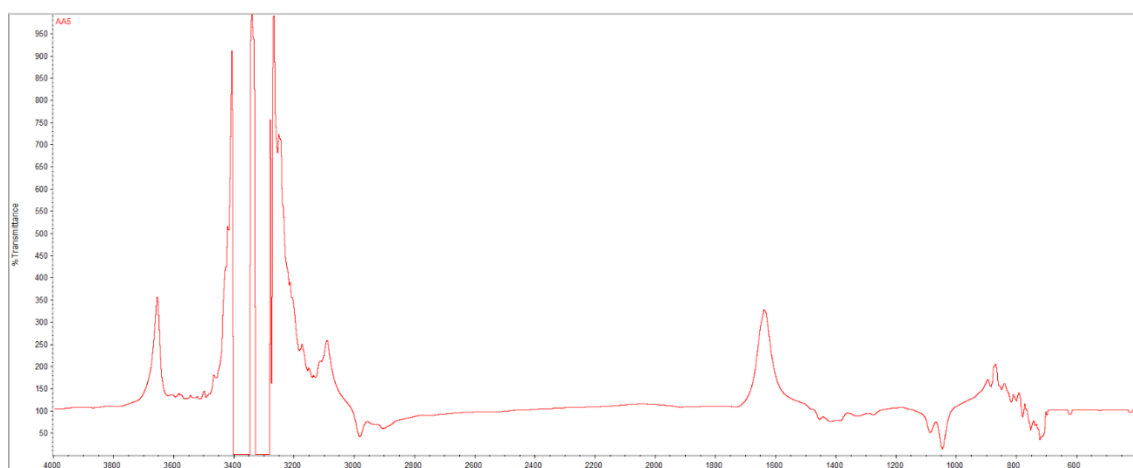


Figura 4. 4. Espetro do AA5 [Escala vertical: 0 – 1 000 %; Escala horizontal: 4 000 - 400 cm⁻¹].

Verificou-se, pela comparação das figuras 4.2, 4.3 e 4.4, uma diferença significativa na escala vertical, ou seja, na intensidade dos picos, sendo que os picos do vinho sintético têm uma intensidade maior. Este facto pode ser justificado pela origem das amostras – natural e sintética. Entretanto, os picos localizam-se nas mesmas zonas do comprimento de onda.

4.2. Retas de calibração para a análise de vinhos no FTIR

O equipamento FTIR foi adquirido com os métodos de análise implementados, internamente, para os parâmetros pretendidos para a empresa. Desta forma, para a quantificação das amostras foi necessário fazer um ajuste à calibração interna dos métodos aplicados, ou seja, uma recalibração do equipamento. As retas de calibração implementadas neste trabalho apresentam a concentração medida pelo FTIR em função da concentração de referência e não de concentração em função da sinal, dado ser uma recalibração.

Para a construção das retas de calibração, foram utilizadas soluções-padrão de vinhos naturais e de vinhos sintéticos (ver capítulo 3.2). Os valores da concentração dos padrões, indicados pelos fornecedores, podem ser encontrados no capítulo 3.2. As retas não contêm nenhum tipo de amostra de branco. Os parâmetros de teor alcoólico, de massa volúmica, de acidez total, de acidez volátil e do teor de açúcares totais e redutores foram estudados neste estágio.

4.2.1 Teor alcoólico

Inicialmente foram traçadas retas de calibração com as soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes (ver tabela 3.1), cujos valores de concentração experimentais podem ser encontradas no anexo C.2. Obteve-se a reta de calibração demonstrada na figura 4.5.

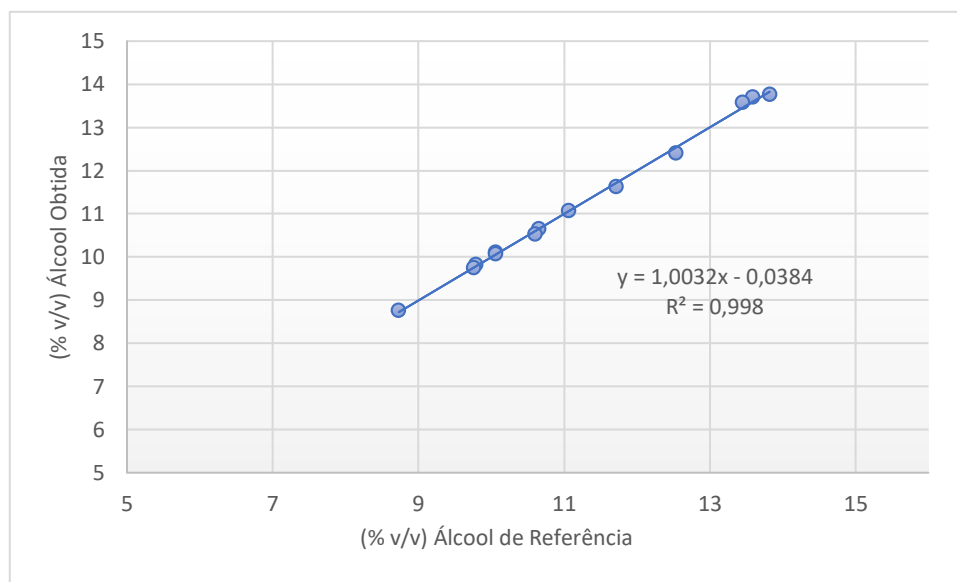


Figura 4. 5. Reta de calibração para o teor alcoólico, traçada com os padrões da Comissão de Vinhos Verdes.

Na tabela 4.1 encontra-se a equação de reta, o coeficiente de correlação, o desvio-padrão do método, o valor de Sy/x e os limites de deteção (LOD) e de quantificação (LOQ) da respetiva reta (ver as fórmulas de cálculo no capítulo 2.4.) Através da análise dos dados estatísticos da reta, concluiu-se que o coeficiente de correlação é satisfatório ($> 0,995$), tal, como o LOQ ($< LIE$). Assim, o intervalo de trabalho, para esta reta, é de $[0,78 - 13,76] \text{ } \%(v/v)$. Embora, os valores obtidos sejam razoáveis, traçaram-se várias retas de calibração e, concluiu-se que, com a adição das soluções-padrão sintéticas à reta, consegue-se uma gama de trabalho mais alargada.

Tabela 4. 1. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD ($\%(v/v)$) para o parâmetro de teor alcoólico, das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão ($\%(v/v)$)	Sy/x	LOD ($\%(v/v)$)	LOQ ($\%(v/v)$)
$y=1,0032*x-0,0384$	0,9990	0,078	0,0781	0,23	0,78

Os dados estatísticos da respetiva reta, como o coeficiente de correlação, o desvio-padrão, o valor de Sy/x e os limites de quantificação (LOQ) e de deteção (LOD) podem ser consultados na tabela 4.2. A figura 4.6 ilustra a reta construída com os padrões naturais e sintéticos.

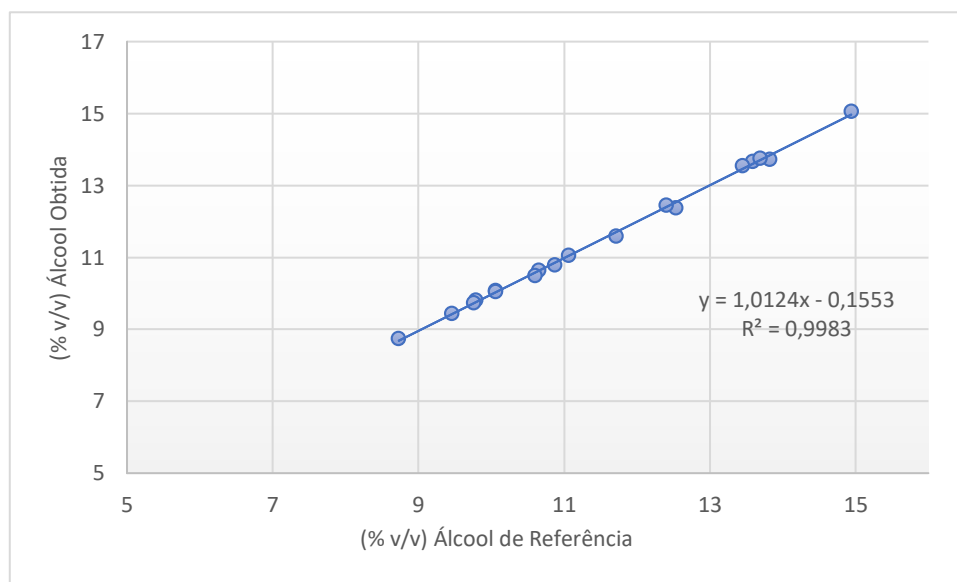


Figura 4. 6. Reta de calibração, para o teor alcoólico obtida com soluções-padrão naturais e sintéticas.

Com a adição dos padrões TITRIVIN, conseguiu-se 18 pontos em vez de 13. O número mínimo, admissível, de padrões para uma reta de calibração é 5, o recomendável é maior do que dez, sendo que, quanto mais padrões se utiliza, maior é a confiança nos resultados obtidos [31].

Tabela 4. 2. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (%v/v) para o parâmetro de teor alcoólico, obtidos com padrões naturais e sintéticos.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão (%v/v)	Sy/x	LOD (%v/v)	LOQ (%v/v)
$y=1,0124*x-0,1533$	0,9991	0,077	0,0774	0,23	0,76

Verificou-se que, com a adição dos vinhos sintéticos à reta, o valor de desvio-padrão diminuiu (de 0,0778 para 0,0765 (%v/v)), tal como o Sy/x , mas manteve-se na mesma ordem de grandeza. No entanto, o que diz respeito ao LOD e LOQ, a resposta foi semelhante. Concluiu-se que, no caso do método de análise do teor alcoólico, o intervalo de trabalho foi de [0,76 – 15,06] (%v/v). Desta forma, a reta final implementada no período de estágio, foi a apresentada na figura 4.6, os dados da concentração dos padrões estão tabelados no anexo C.3.

4.2.2 Massa volúmica

Na construção da reta de calibração para este parâmetro foram utilizadas as amostras da Comissão de Vinhos Verdes, e a reta é apresentada na figura 4.7. Os valores experimentais de concentração podem ser consultados no anexo C.4. Na tabela 4.3 encontra-se a equação de reta, o coeficiente de correlação, o desvio-padrão, o valor de Sy/x e LOQ, LOD da respetiva reta de calibração. Não foram utilizadas as soluções de vinho sintético, porque não se encontravam certificadas para este parâmetro.

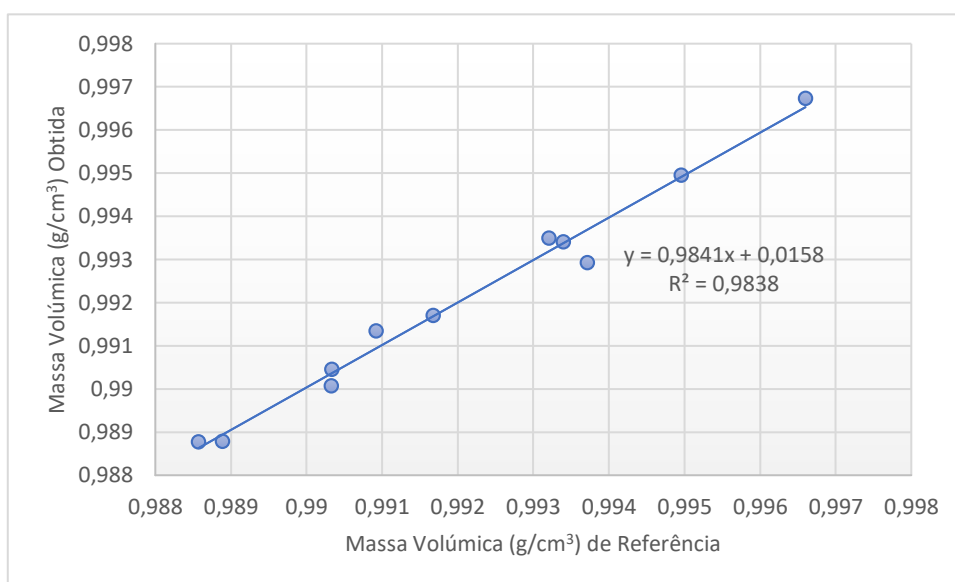


Figura 4. 7. Reta de calibração de massa volúmica (g/cm³ obtida vs. g/cm³ de referência).

O intervalo de trabalho foi de [0,0034 – 0,99673] (g/cm³). O valor do coeficiente de correlação foi satisfatório, embora inferior a 0,995, um vez que se adotou o valor de 0,990 como mínimo. O LOQ é aceitável, uma vez que se aproximou de zero. Inicialmente a reta continha 14 pontos, mas verificou-se que, ao retirar, 3 pontos (padrão 4,6 e 7), o perfil da reta melhorava significativamente.

Tabela 4. 3. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (g/cm³) para o parâmetro de massa volúmica.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão (g/cm³)	Sy/x	LOD (g/cm³)	LOQ (g/cm³)
$y=0,9841*x+0,0158$	0,9919	0,00034	0,00034	0,0010	0,0034

4.2.3 Acidez volátil acética

Na figura 4.8 encontra-se apresentada a reta de calibração traçada para a determinação da acidez volátil com as soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes. Pela análise do gráfico, foi possível afirmar que a respetiva reta não podia ser utilizada, uma vez que os seus parâmetros não cumpriam os requisitos estabelecidos, que podem ser consultados na tabela 4.4.

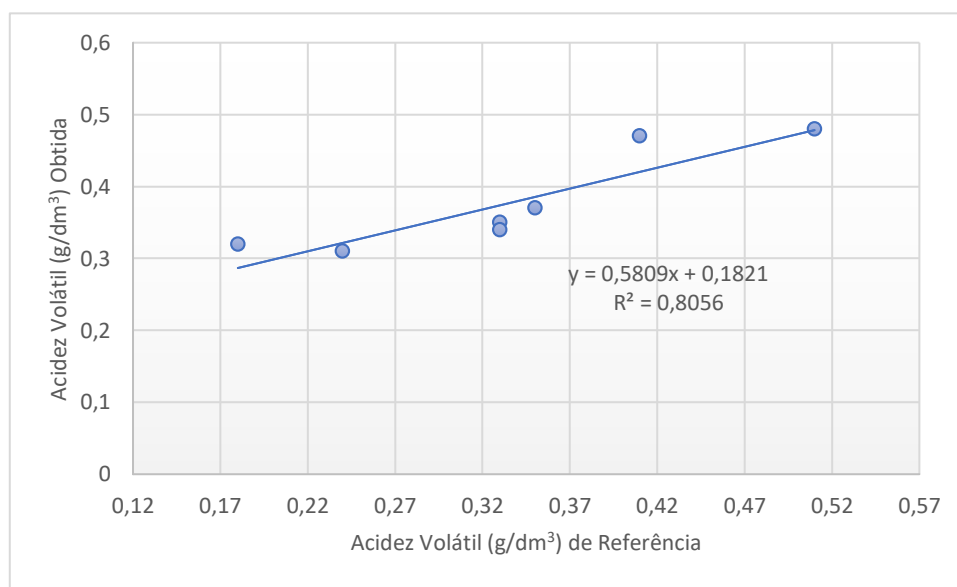


Figura 4. 8. Reta de calibração de acidez volátil construída com padrões da Comissão de Vinhos Verdes.

Os valores experimentais da concentração das soluções-padrão estão tabelados no anexo C.5. O coeficiente de correlação não é satisfatório ($< 0,995$) e o LOQ é superior ao LIE estabelecido pela empresa ($0,18 \text{ g/dm}^3$ para vinho branco). Embora o LOD seja inferior ao LIE, esta informação é insuficiente para quantificar corretamente as amostras.

Tabela 4. 4. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (g/dm^3) para o parâmetro de acidez volátil acética, obtidos com as soluções-padrão da Comissão.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão (g/dm^3)	Sy/x	LOD (g/dm^3)	LOQ (g/dm^3)
$y=0,5809*x+0,1821$	0,8976	0,058	0,034	0,17	0,58

No sentido de melhorar a curva de calibração, adicionaram-se as soluções-padrão de vinho sintético à reta. Pela análise da figura 4.9, confirmou-se que a reta apresentou melhoria nos resultados. Os valores da concentração experimental das soluções-padrão utilizadas para a construção da reta, estão tabelados no anexo C.6.

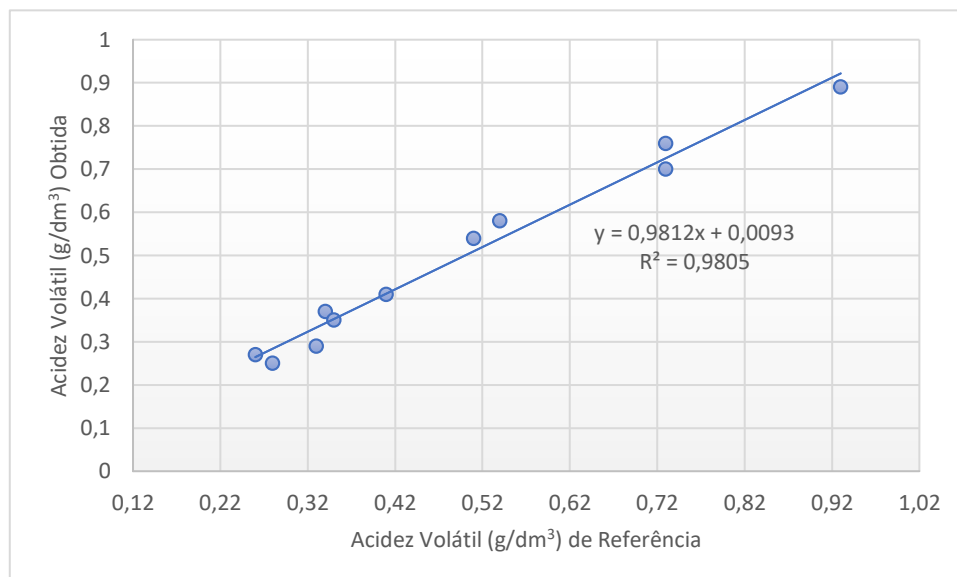


Figura 4. 9. Reta de calibração, final, de acidez volátil (g/dm³ obtida vs. g/dm³ de referência).

Na tabela 4.5 encontra-se a equação de reta, o coeficiente de correlação, o desvio-padrão, o valor de Sy/x e os LOQ e LOD da respetiva reta de calibração. Como se pode observar, a adição de padrões sintéticos melhorou o desempenho estatístico da reta de calibração para este parâmetro. Entretanto o LOQ continuou a não se adequar às necessidades existentes da empresa, pelo que, nos casos em que o valor apresentado pelo equipamento for inferior a 0,33 (g/dm³), deve ser apresentado o resultado “< 0,33 (g/dm³)”. Se a concentração da amostra estiver incluída entre o LOD e o LOQ, dever-se-á representar o resultado da seguinte forma – “0,098 < |Acidez Volátil| < 0,33 (g/dm³)”. O coeficiente de correlação continuou não satisfatório, embora mais aceitável. O intervalo de trabalho do método foi de [0,33 – 0,89] (g/dm³).

Tabela 4. 5. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (g/dm³) para o parâmetro de acidez volátil acética, obtidos com os padrões de vinho natural e sintético.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão (g/dm ³)	Sy/x	LOD (g/dm ³)	LOQ (g/dm ³)
y=0,9812*x+0,0093	0,9801	0,033	0,032	0,098	0,33

4.2.4 Acidez total tartárica

A reta de calibração construída com padrões da Comissão está apresentada na figura 4.10, os respetivos valores de concentração experimental podem ser consultados no anexo C.7.

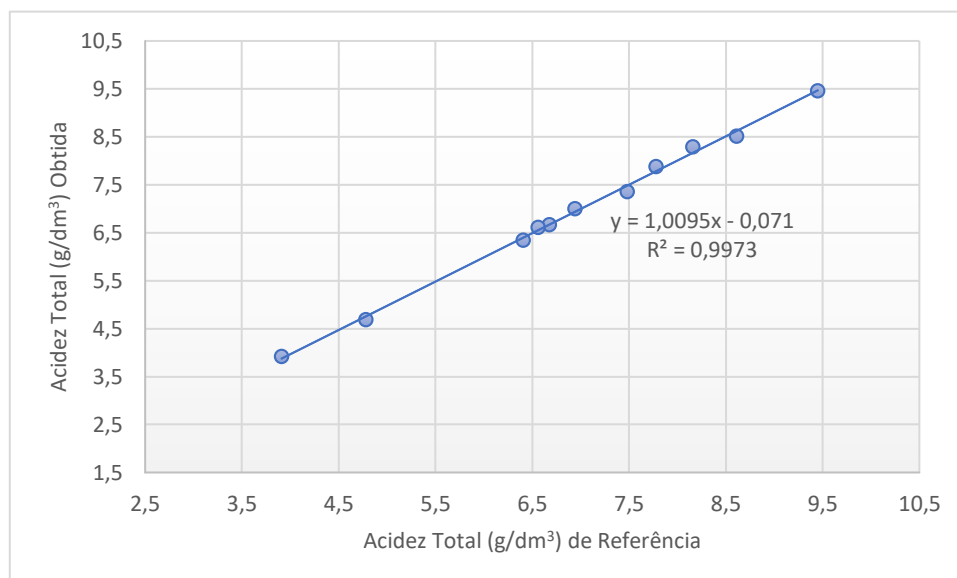


Figura 4. 10. Reta de calibração de acidez total construída com padrões da Comissão de Vinhos Verdes.

Na tabela 4.6 encontra-se a equação de reta, o coeficiente de correlação, o desvio-padrão, o valor de Sy/x e os LOQ e LOD da respetiva reta de calibração. Através da análise dos dados estatísticos obtidos, concluiu-se que a reta cumpre os requisitos estabelecidos. O coeficiente de correlação é satisfatório ($> 0,995$) e o LOD/LOQ estão de acordo com a especificação definida pela empresa (ver capítulo 2.3.3).

Tabela 4. 6. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOD (g/dm^3) para o parâmetro de acidez total tartárica – Comissão.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão (g/dm^3)	Sy/x	LOD (g/dm^3)	LOQ (g/dm^3)
$y=1,0095*x-0,071$	0,9986	0,088	0,09	0,26	0,88

Com o objetivo de testar várias alternativas, foi construída uma reta contendo os padrões provenientes da Comissão de Vinhos Verdes e os padrões TITRIVIN. Os valores experimentais da sua concentração podem ser encontrados no anexo C.8. A figura 4.11 representa a reta obtida. Na tabela 4.7 encontra-se a equação de reta, o coeficiente de correlação, o desvio-padrão, o valor de Sy/x e os LOD/LOQ da respetiva reta de calibração.

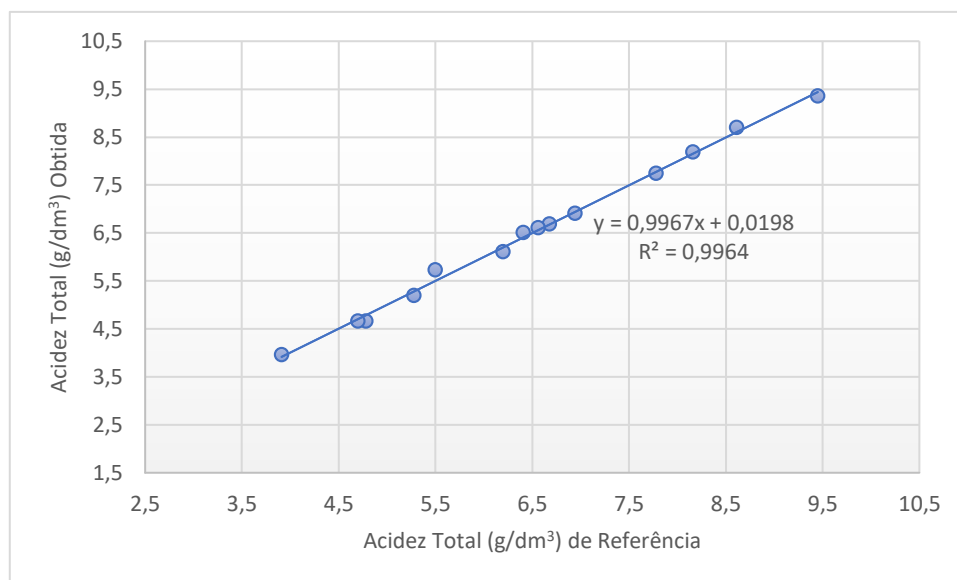


Figura 4. 11. Reta de calibração de acidez total, obtida com padrões naturais e sintéticos.

Através da análise dos dados estatísticos obtidos, concluiu-se que a reta obtida cumpre os requisitos estabelecidos. O coeficiente de correlação é superior a 0,995, o LOQ está de acordo com o LIE definido pela SBG. Não se observaram diferenças significativas entre as duas retas, no entanto, como a segunda reta tem mais pontos contidos, foi escolhida como a final. Deste modo, o intervalo de trabalho foi de [1,0 – 9,35] (g/dm³).

Tabela 4. 7. Equação da reta, razão performance/desvio, coeficiente de correlação, Sy/x e LOQ, LOQ (g/dm³) para o parâmetro de acidez total tartárica.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão	Sy/x	LOD (g/dm³)	LOQ (g/dm³)
$y=0,9967*x+0,0198$	0,9982	0,10	0,10	0,30	1,0

4.2.5 Teor de açúcares totais

Tal como aconteceu nos outros parâmetros, inicialmente testou-se uma reta de calibração construída com soluções-padrão da Comissão. A respetiva reta pode ser vista na figura 4.12. Os valores experimentais de concentração podem ser encontrados no anexo C.9. Na tabela 4.8 encontra-se a equação de reta, o coeficiente de correlação, o desvio-padrão, o valor de Sy/x e os LOQ e LOD da respetiva reta de calibração.

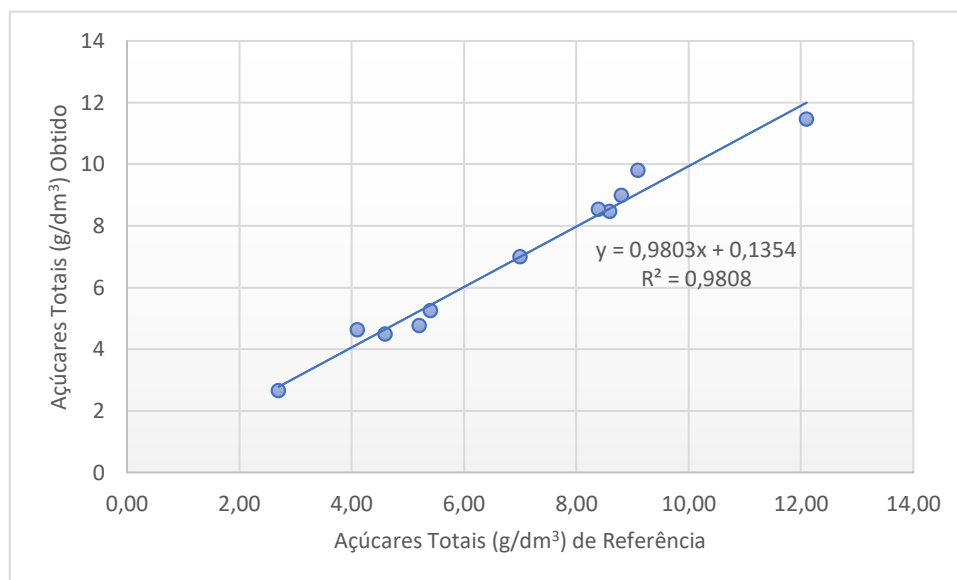


Figura 4. 12. Reta de calibração de açúcares totais construída com padrões da Comissão de Vinhos Verdes.

O coeficiente de correlação foi satisfatório ($> 0,990$), entretanto, o LOQ foi elevado, tendo em conta as necessidades da empresa, pois, nas amostras de cisterna, o teor em açúcares totais é reduzido (por volta de $0 - 3 \text{ g/dm}^3$). Assim, não seria possível indicar um valor quantitativo especificado deste tipo de amostras.

Tabela 4. 8. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOD, LOQ (g/dm^3) para o teor de açúcares totais, obtidos com as soluções-padrão da Comissão.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão (g/dm^3)	Sy/x	LOD (g/dm^3)	LOQ (g/dm^3)
$y=0,9803*x+0,1354$	0,9904	0,41	0,40	1,2	4,1

Para alargar a gama de trabalho foram incluídos soluções-padrão sintéticas e a reta final é apresentada na figura 4.13. Os valores experimentais da sua concentração podem ser encontrados no anexo C.10. Na tabela 4.9 encontra-se a equação de reta, o coeficiente de correlação, o desvio-padrão, o valor de Sy/x e os LOQ e LOD da respetiva reta de calibração. Os dados estatísticos foram satisfatórios, o coeficiente de correlação aumentou ($> 0,995$) e o desvio-padrão diminuiu de 0,41 para 0,29. Entretanto, o LOD e LOQ continuaram elevados para a quantificação das amostras de cisternas que contêm baixo teor de açúcares. O intervalo de trabalho foi de $[2,88 - 11,43] (\text{g/dm}^3)$.

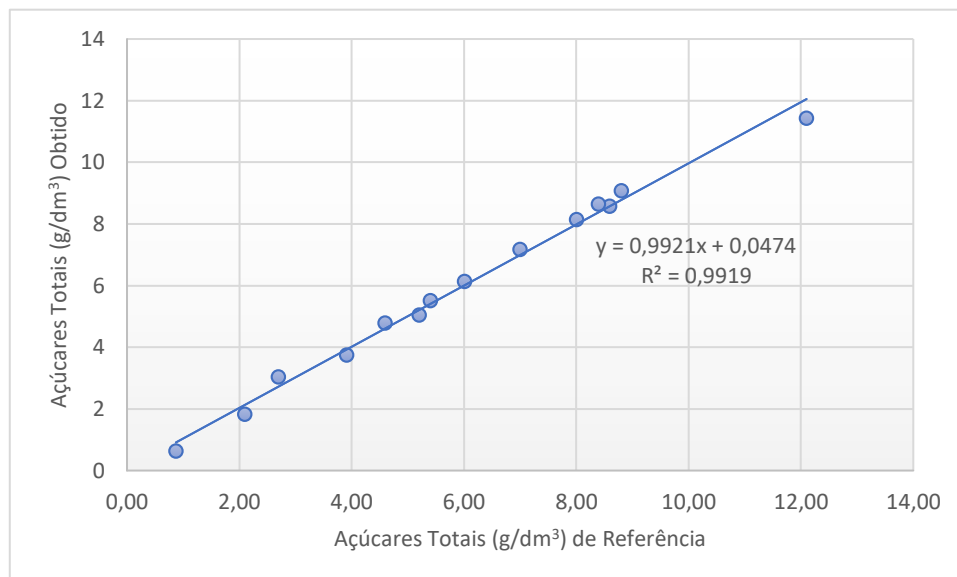


Figura 4. 13. Reta de calibração, final, de açúcares totais obtida com padrões naturais e sintéticos.

Tabela 4. 9. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOD, LOQ (g/dm^3) para o teor de açúcares totais, para os padrões naturais e sintéticos.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão (g/dm^3)	Sy/x	LOD (g/dm^3)	LOQ (g/dm^3)
$y=0,9921*x+0,0474$	0,9959	0,29	0,29	0,86	2,88

4.2.6 Teor de açúcares redutores

Na construção da reta de calibração utilizada para a determinação do teor de açúcares redutores foram utilizados os padrões sintéticos TITRIVIN. Os resultados experimentais das soluções-padrão utilizadas pode ser consultada no anexo C.11. A figura 4.14 ilustra a respetiva reta de calibração. Na tabela 4.12 encontra-se a equação de reta, o coeficiente de correlação, o desvio-padrão, o valor de Sy/x e os LOQ e LOD da respetiva reta de calibração. Pela análise dos dados estatísticos apresentados, pôde-se adirmar que a reta satisfaz os requisitos estabelecidos e pode ser utilizada para a quantificação de amostras, uma vez que o coeficiente de correlação é superior a 0,995 e LOQ encontrava-se de acordo com o LIE estabelecido pela SBG. O intervalo de trabalho foi de $[0,70 - 7,98]$ (g/dm^3). Como O LSE é de $10,5 g/dm^3$, concluiu-se que o intervalo de trabalho deve ser alargado.

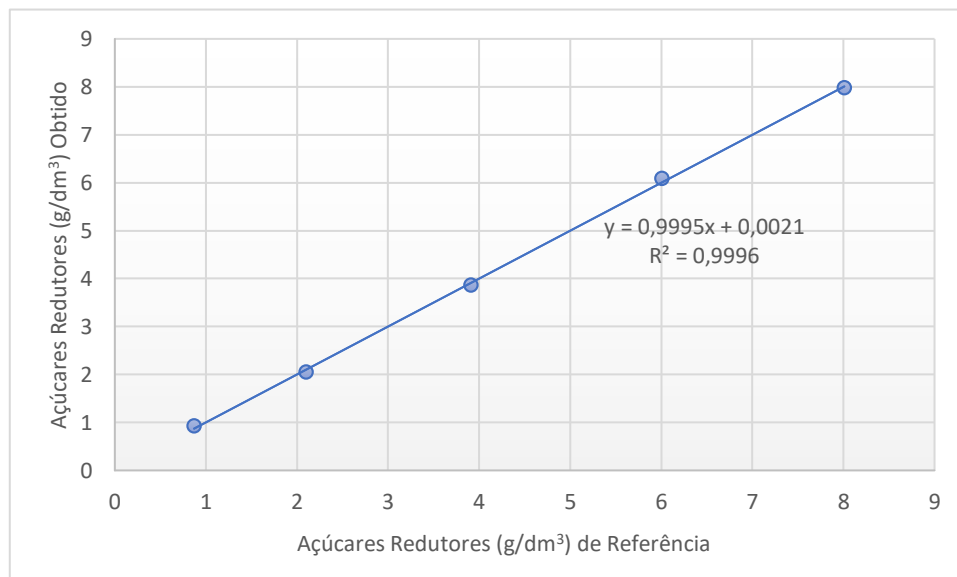


Figura 4. 14. Reta de calibração para o teor de açúcares redutores.

Tabela 4. 10. Equação da reta, coeficiente de correlação, Sy/x e LOD, LOQ (g/dm³) para o teor de açúcares redutores.

Equação de reta	Coeficiente de correlação	Desvio-padrão	Sy/x	LOD (g/dm³)	LOQ (g/dm³)
$y=0,9995*x+0,0021$	0,9998	0,07	0,07	0,21	0,70

4.3 Avaliação dos métodos

Neste capítulo irão ser descritos os resultados obtidos na avaliação dos métodos do FTIR, nomeadamente, da veracidade, da repetibilidade, da precisão intermédia e da eficácia. A repetibilidade foi analisada de duas formas - recorrendo aos métodos internos do FTIR e pelo método clássico, ou seja, recorrendo ao Guia 13 da Relacre. A eficácia foi estudada através do método interno do FTIR.

4.3.1 Teste de eficácia e de repetibilidade – método interno do FTIR

Os testes de eficácia e de repetibilidade pelos métodos internos do equipamento foram efetuados de acordo com o manual do equipamento (ver procedimento no capítulo 3.4.1). Os resultados apresentados pelo software para a eficácia e repetibilidade são exemplificados nas tabelas 4.11 e 4.12, respetivamente. O teste de eficácia considera-se como bem-sucedido, quando o parâmetro “Eficácia 1/2”, que representa a verificação da proximidade, dos resultados da água, de zero, e, quando o parâmetro “Eficácia 2/1”, que indica a avaliação do sistema se os resultados obtidos com o vinho não foram influenciados pela amostra anterior ou pela solução de lavagem, são próximos de 100 %, para o parâmetro de álcool e teor de açúcares.

Tabela 4. 11. Resultados do teste de eficácia, obtidos com uma amostra de vinho branco de cisterna (v) e água desionizada (a).

Otimização	Teor Alcoólico (%)	Massa Volúmica (g/cm ³) g/l	Açúcares Totais (g/L) [Glucose+Frutose]
v	10.09	0.99134	0.75
v	10.15	0.99108	0.71
a	0.39	0.99541	3.22
a	0.40	0.99540	3.01
v	10.17	0.99104	1.01
v	10.15	0.99107	0.83
a	0.37	0.99545	3.11
a	0.36	0.99543	3.13
Eficácia 1 / 2	99.8%	97.4%	95.2%
Eficácia 2 / 1	100.0%	100.0%	100.0%

Caso os valores obtidos de eficácia não sejam satisfatórios, recomenda-se a verificação do circuito de fluídos e da solução de lavagem. Com base nos resultados da tabela 4.11, pôde-se concluir que o equipamento passou com sucesso no teste.

Tabela 4. 12. Valores obtidos para o teste de repetibilidade interno do FTIR, obtidos a partir de 11 tomas de uma amostra de vinho branco de barril; a respetiva média ($\bar{x}$) e o desvio-padrão (%).

Otimização	Teor Alcoólico (%)
1	10.07
2	10.11
3	10.10
4	10.10
5	10.12
6	10.10
7	10.11
8	10.08
9	10.14
10	10.10
11	10.05
$\bar{x}$	10.1
Desvio Padrão	0.2% (0.023)

No caso do teste interno de repetibilidade, foram analisadas 11 amostras de vinho branco de barril. O manual de equipamento indica que desvio-padrão deve ser inferior a 1%, no caso do teor alcoólico [26]. Pela análise dos resultados da tabela 4.12, verificou-se que a repetibilidade dos resultados é aceitável ($< 1\%$), ou seja, o equipamento encontrava-se nas condições de ser utilizado.

4.3.2 Teor alcoólico

No caso da análise da veracidade para o método de determinação do teor alcoólico, foram estudados cinco tipos de amostra – mosto de vinho tinto, vinho tinto, vinho branco de barril e sangria branca e tinta. Os resultados obtidos para as amostras de sangria irão ser abordados no capítulo 4.6. O teor alcoólico foi medido por três processos diferentes – alcoómetro, densímetro digital e *Anton Paar*. Os resultados obtidos encontram-se tabelados na tabela 4.13. A conversão de resultados, no caso das medições feitas pelo densímetro digital, pode ser vista no anexo D.1.

Tabela 4. 13. Valores de teor alcoólico obtidos pelo FTIR, em comparação com alcoómetro, Anton Paar e densímetro digital, para amostras de mosto, vinho tinto e vinho branco de barril, em % (v/v).

Amostra	%(v/v) [FTIR]	%(v/v) [Alcoómetro]	%(v/v) [Anton Paar]	%(v/v) [Densímetro]
Mosto	0,81	0,00	0,21	ND ⁶
Vinho Tinto	13,33	13,33	12,42	12,38
Vinho Branco Barril	10,05	9,67	9,95	9,91

Através da análise da tabela 4.13, verificou-se que a concentração do teor alcoólico na amostra de mosto, medida com o densímetro digital foi negativa, desta forma o respetivo resultado foi apresentado como “ND” e não foi considerado para o cálculo do erro relativo entre os métodos. A tabela 4.14 apresenta os valores de erro relativo entre as medições efetuadas. O exemplo deste cálculo pode ser encontrado no anexo D.2.

Tabela 4. 14. Valores do erro relativo de resultados obtidos pelo FTIR, em comparação com alcoómetro, Anton Paar e densímetro digital, para amostras de vinho tinto e vinho branco de barril, em %.

Amostra	Erro Relativo (%) FTIR/Alcoómetro	Erro Relativo (%) FTIR/Anton Paar	Erro Relativo (%) FTIR/Densímetro
Vinho Tinto	-0,03	7,3	7,7
Vinho Branco Barril	4,0	1,1	1,4

⁶ ND – Não definido.

O erro relativo para a amostra do mosto, não foi apresentado, devido a diferenças entre os resultados obtidos. No entanto, o FTIR, o alcoómetro e o *Anton Paar*, mostraram resultados entre 0 e 1 %(v/v), o que seria de esperar para uma amostra de mosto de vinho. No caso de vinho tinto, o menor erro absoluto foi o de alcoómetro. Os resultados obtidos par o *Anton Paar* e densímetro foram semelhantes, uma vez que, ambos recorrem a conversão de unidades através de densidade da mistura hidroalcoólica do destilado. Concluiu-se que, para as amostras de vinho tinto, os resultados obtidos foram satisfatórios. Os valores de erro relativo para as amostras de vinho branco de barril foram aceitáveis, uma vez que, são todos inferiores à 5%, sendo este o critério adotado para a avaliação dos resultados.

Concluiu-se que, o método da determinação de teor alcoólico é funcional para a análise de amostras de vinho branco e tinto, com base no parâmetro de erro relativo entre o FTIR e métodos clássicos. Para as amostras de mosto, é necessário realizar estudos com matérias de referência certificados.

Com o objetivo de avaliar o método, foram executados os ensaios para a determinação de repetibilidade. A tabela 4.15 representa os valores obtidos na análise do vinho branco e tinto.

Tabela 4. 15. Valores de teor alcoólico %(v/v), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto para o vinho branco e tinto.

Vinho Branco	%(v/v)	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $
1	10,07	-	-
2	10,11	0,04	0,04
3	10,10	-0,01	0,01
4	10,10	0,00	0,00
5	10,12	0,02	0,02
6	10,10	-0,02	0,02
7	10,11	0,01	0,01
8	10,08	-0,03	0,03
9	10,14	0,06	0,06
10	10,10	-0,04	0,04
11	10,05	-0,05	0,05

Vinho Tinto	%(v/v)	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $
1	13,59	-	-
2	13,56	-0,03	0,03
3	13,60	0,04	0,04
4	13,57	-0,03	0,03
5	13,56	-0,01	0,01
6	13,57	0,01	0,01
7	13,56	-0,01	0,01
8	13,49	-0,07	0,07
9	13,57	0,08	0,08
10	13,59	0,02	0,02
11	13,50	-0,09	0,09

O cálculo do limite de repetibilidade (r) foi feito com recurso à ferramenta Excel (ver equação 2.6). O r para o vinho branco foi de 0,07 %v/v) e para o vinho tinto de 0,10 %v/v). Como todos os valores absolutos da diferença entre os resultados consecutivos foram menores do que o r , pode-se concluir que o método é preciso em termos de repetibilidade, para os dois tipos de vinho.

Na análise da precisão intermédia do método, foram utilizados dois tipos de amostras – vinho branco e tinto, e as condições escolhidas foram o método de degaseificação e a temperatura das amostras. As tabelas relativas para todos os métodos estudados neste trabalho podem ser vistas no anexo E.

Na tabela 4.16 é possível observar os resultados da precisão intermédia, da média das amostras e do desvio-padrão percentual, para o parâmetro de álcool, de vinho branco e tinto. A tabela 4.16 indica que, o valor da precisão intermédia para o vinho tinto é inferior à de vinho branco. Entretanto, ambos os valores foram considerados como aceitáveis, pois, a percentagem de desvio-padrão foi inferior à 5%.

Tabela 4. 16. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (%v/v) e do desvio-padrão percentual para o teor alcoólico.

	Branco	Tinto
Precisão Intermédia	0,16	0,05
Média de valores (%v/v)	9,70	13,63
Desvio-padrão relativo (%)	1,61	0,38

4.3.3 Massa volúmica

Para a avaliação da veracidade deste método foram analisados 3 tipos de amostras – vinho branco de barril, vinho branco de cisterna e vinho tinto. No caso de vinho branco de barril, foram analisadas três amostras independentes. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 4.17, tal como o erro relativo respetivo. Pela análise de tabela 4.17, verificou-se que os erros relativos foram inferiores à 5%, para todas as amostras, logo, o método estudado foi funcional, com base no parâmetro de erro relativo entre o FTIR e o método clássico (densímetro digital). Para completar o presente estudo, recomenda-se fazer a mesma avaliação para as amostras de mosto.

Tabela 4. 17. Valores obtidos pelo FTIR, em comparação com o densímetro digital, para amostras de vinho de cisterna branco, vinho tinto e vinho branco de barril, em (g/cm³) e o erro relativo respetivo (%).

Amostra	(g/cm ³) [FTIR]	(g/cm ³) [Densímetro]	Erro Relativo (%) FTIR/Densímetro
Vinho Branco Barril 1	0,99506	0,99530	-0,024
Vinho Branco Barril 2	0,99502	0,99530	-0,028
Vinho Branco Barril 3	0,99507	0,99530	-0,023
Cisterna Branco	0,99012	0,99001	0,011
Vinho Tinto	0,99452	0,99450	0,0020

A tabela 4.18 demonstra os valores obtidos para o estudo da repetibilidade, de vinho branco e tinto do método da determinação de massa volúmica.

Tabela 4. 18. Valores de massa volúmica (g/cm³), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto para o vinho branco e tinto.

Vinho Branco	(g/cm ³)	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $
1	0,99564	-	-
2	0,99569	5E-05	5E-05
3	0,99563	-6E-05	6E-05
4	0,99576	1,3E-04	1,3E-04
5	0,99573	-3E-05	3E-05
6	0,99572	-1E-05	1E-05
7	0,99571	-1E-05	1E-05
8	0,99571	0	0
9	0,99566	-5E-05	5E-05
10	0,99560	-6E-05	6E-05
11	0,99573	1,3E-04	1,3E-04

Vinho Tinto	(g/cm ³)	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $
1	0,99433	-	-
2	0,99435	2E-05	2E-05
3	0,99437	2E-05	2E-05
4	0,99435	-2E-05	2E-05
5	0,99433	-2E-05	2E-05
6	0,99434	1E-05	1E-05
7	0,99437	3E-05	3E-05
8	0,99452	1E-04	1E-04
9	0,99436	-1E-04	1E-04
10	0,99435	-1E-05	1E-05
11	0,99446	1,1E-04	1,1E-04

O valor de r para o vinho branco foi de 0,00014 g/cm³ e para o vinho tinto de 0,00017 g/cm³. Com todos os valores absolutos da diferença entre os resultados consecutivos foram menores do que o r , conseguiu-se concluir o método é preciso em termos de repetibilidade, para os dois tipos de vinho, no caso deste parâmetro.

A tabela 4.19 demonstra os resultados da precisão intermédia, da média das amostras e do desvio-padrão percentual, para o parâmetro de massa volúmica, de vinho branco e tinto. De referir que, no caso de vinho branco, foi preciso rejeitar um dos valores obtidos, porque saía da gama de trabalho, tendo assim, no total, 15 amostras, em vez de 16.

Tabela 4. 19. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/cm^3) e do desvio-padrão percentual para a massa volúmica.

	Branco	Tinto
Precisão Intermédia	0,00020	0,00011
Média de valores (g/cm^3)	0,99580	0,99422
Desvio-padrão relativo (%)	0,01979	0,01075

Com os resultados obtidos, concluiu-se que a precisão intermédia foi satisfatória para ambos os tipos de amostra.

4.3.4 Acidez total

Na determinação do erro relativo para o método da determinação de acidez total, foram utilizados três tipos de amostras – cisterna de vinho branco, vinho tinto e TVF de vinho branco. Os resultados obtidos estão tabelados na tabela 4.20, tal como, o erro relativo respetivo. O exemplo de cálculo da acidez total, pelo método clássico pode ser encontrado no anexo D.3. Pela análise da tabela 4.20, constatou-se que, para as amostras de cisterna de vinho branco e as amostras de vinho tinto, o erro relativo foi inferior à 5%, logo, o método foi funcional para este tipo de amostra. Entretanto, no caso do TVF de vinho branco, o erro relativo foi inferior à 10%, embora sendo um resultado aceitável, é conveniente repetir a análise. Verificou-se, que, para todas as amostras, o valor do erro relativo teve sinal negativo, ou seja, suspeitou-se da existência de erros sistemáticos, como, por exemplo, o erro do operador, o tratamento das amostras, a solução titulante, etc. Assim, é aconselhável repetir estes ensaios e validar a sua influência nos resultados.

Tabela 4. 20. Valores obtidos pelo FTIR, em comparação com a titulação, para amostras de vinho de cisterna branco, vinho tinto e TVF branco, em (g/dm^3) e o erro relativo respetivo (%), para o parâmetro de acidez total.

Amostra	(g/dm^3) [FTIR]	(g/dm^3) [Titulação]	Erro Relativo (%) FTIR/Titulação
Cisterna Branco	5,90	6,13	-3,8
Vinho Tinto	6,64	6,95	-4,5
TVF Branco	5,96	6,56	-9,2

A tabela 4.21 apresenta os valores de repetibilidade para as amostras de vinho branco e tinto, para o parâmetro de acidez total.

Tabela 4. 21. Valores de acidez total (g/dm^3), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto para o vinho branco e tinto.

Vinho Branco	(g/dm^3)	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $	Vinho Tinto	Valor	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $
1	5,79	-	-	1	7,14	-	-
2	5,78	-0,01	0,01	2	7,16	0,02	0,02
3	5,83	0,05	0,05	3	7,16	0,00	0,00
4	5,83	0,00	0,00	4	7,16	0,00	0,00
5	5,79	-0,04	0,04	5	7,17	0,01	0,01
6	5,73	-0,06	0,06	6	7,10	-0,07	0,07
7	5,63	-0,10	0,10	7	7,14	0,04	0,04
8	5,79	0,16	0,16	8	7,01	-0,13	0,13
9	5,83	0,04	0,04	9	7,07	0,06	0,06
10	5,85	0,02	0,02	10	7,18	0,11	0,11
11	5,83	-0,02	0,02	11	7,10	-0,08	0,08

O r para o vinho branco foi de $0,20 \text{ g/dm}^3$ e para o vinho tinto de $0,14 \text{ g/dm}^3$. Como todos os valores absolutos da diferença entre os resultados consecutivos foram menores do que o r , pôde-se concluir o método foi preciso em termos de repetibilidade, para os dois tipos de vinho, no caso deste método.

Na tabela 4.22 apresentam-se os resultados da precisão intermédia, da média das amostras e do desvio-padrão percentual, para o parâmetro de acidez total, de vinho branco e tinto. Pela análise da tabela, verificou-se que, a precisão intermédia dos valores de vinho tinto foi melhor, pois o seu valor é menor. Ambos os valores foram aceitáveis, pois a %DP foi inferior à 5 %.

Tabela 4. 22. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/dm^3) e do desvio-padrão percentual para a acidez total.

	Branco	Tinto
Precisão Intermédia	0,11	0,05
Média de valores (g/dm^3)	5,47	7,12
Desvio-padrão relativo (%)	2,10	0,65

4.3.5 Acidez volátil

Na avaliação da repetibilidade para o método de determinação da acidez volátil, verificou-se que o só foi possível para as amostras de vinho tinto, uma vez que a concentração das amostras de vinho branco encontrava-se fora do intervalo de trabalho. A tabela 4.23 representa os resultados obtidos de repetibilidade, para o vinho tinto.

Tabela 4. 23. Valores de acidez volátil (g/dm^3), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto para o vinho tinto.

Vinho Tinto	(g/dm^3)	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $
1	0,38	-	-
2	0,39	0,01	0,01
3	0,40	0,01	0,01
4	0,40	0,00	0,00
5	0,42	0,02	0,02
6	0,43	0,01	0,01
7	0,43	0,00	0,00
8	0,46	0,03	0,03
9	0,46	0,00	0,00
10	0,45	-0,01	0,01
11	0,46	0,01	0,01

O valor de r para o vinho tinto é de $0,08 \text{ g/dm}^3$. Como todos os valores absolutos da diferença entre os resultados consecutivos foram menores do que o r , concluiu-se o método foi preciso em termos de repetibilidade, para o vinho tinto, na análise de acidez volátil.

A tabela 4.24 apresenta os resultados da precisão intermédia, da média das amostras e do desvio-padrão percentual, para o parâmetro de acidez volátil, de vinho tinto. Não foi possível obter resultados para o vinho branco, uma vez que, não se enquadravam no intervalo de trabalho do método. Como a %DP é superior à 5%, a precisão intermédia do método foi insatisfatória.

Tabela 4. 24. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/dm^3) e do desvio-padrão percentual para a acidez volátil.

	Tinto
Precisão Intermédia	0,04
Média de valores (g/dm^3)	0,45
Desvio-padrão relativo (%)	9,46

4.3.6 Açúcares totais

Na avaliação da repetibilidade, do método de análise de açúcares totais, verificou-se que as amostras de vinho tinto não estavam inclusas na gama de trabalho, sendo que só foi possível determinar a repetibilidade para as amostras do vinho branco (ver tabela 4.27).

Tabela 4. 25. Valores do teor de açúcares totais (g/dm³), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto, para o vinho branco.

Vinho Branco	(g/dm ³)	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $
1	10,24	-	-
2	10,50	0,26	0,26
3	10,41	-0,09	0,09
4	10,53	0,12	0,12
5	10,46	-0,07	0,07
6	10,34	-0,12	0,12
7	10,23	-0,11	0,11
8	10,24	0,01	0,01
9	10,42	0,18	0,18
10	10,50	0,08	0,08
11	10,63	0,13	0,13

O valor de r para o vinho branco foi de 0,37 g/dm³. Como todos os valores absolutos da diferença entre os resultados consecutivos foram menores do que o r , pôde-se concluir o método foi preciso em termos de repetibilidade, para o vinho branco, para o parâmetro de açúcares totais.

A tabela 4.26 demonstra os resultados da precisão intermédia, da média das amostras e do desvio-padrão percentual, para o parâmetro de teor de açúcares totais, de vinho branco. Para a determinação da precisão intermédia das amostras de vinho tinto é necessário alargar a gama de trabalho do método. O valor da precisão intermédia foi aceitável, para as amostras de vinho branco, dado que, a %DP foi inferior à 5%.

Tabela 4. 26. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/dm³) e do desvio-padrão percentual para o teor de açúcares totais.

	Branco
Precisão Intermédia	0,36
Média de valores (g/dm ³)	10,05
Desvio-padrão relativo (%)	3,55

4.3.7 Açúcares redutores

No caso de açúcares redutores, só foi possível estudar a repetibilidade para as amostras de vinho tinto, uma vez que os resultados obtidos para o vinho branco saíam da gama de trabalho. A tabela 4.27 mostra os valores de repetibilidade para as amostras de vinho tinto. O valor de r para o vinho tinto foi de $0,45 \text{ g/dm}^3$. Como todos os valores absolutos da diferença entre os resultados consecutivos foram menores do que o r , pôde-se concluir o método foi preciso em termos de repetibilidade, para o vinho tinto, neste parâmetro. No caso de vinho branco, é necessário alargar a gama antes de se proceder à determinação de repetibilidade.

Tabela 4. 27. Valores do teor de açúcares redutores (g/dm^3), da diferença entre dois valores consecutivos e o seu valor absoluto, para o vinho tinto.

Vinho Tinto	(g/dm^3)	$X_i - X_{i-1}$	$ X_i - X_{i-1} $
1	3,50	-	-
2	3,36	-0,14	0,14
3	3,02	-0,34	0,34
4	3,29	0,27	0,27
5	3,19	-0,10	0,10
6	3,23	0,04	0,04
7	3,50	0,27	0,27
8	3,24	-0,26	0,26
9	3,53	0,29	0,29
10	3,41	-0,12	0,12
11	3,21	-0,20	0,20

Por fim, a tabela 4.28 apresenta os valores da precisão intermédia, da média das amostras e do desvio-padrão percentual, para o parâmetro de teor de açúcares redutores, de vinho tinto. As amostras de vinho branco não de encontravam na gama de trabalho do método. Conclui-se que, o valor da precisão intermédia foi satisfatório, pois a %DP foi inferior 5%.

Tabela 4. 28. Valores da precisão intermédia, da média dos valores (g/dm^3) e do desvio-padrão percentual para o teor de açúcares redutores.

	Tinto
Precisão Intermédia	0,16
Média de valores (g/dm^3)	3,28
Desvio-padrão relativo (%)	4,76

4.4 Análise de Sangria no FTIR

Na figura 4.15 encontra-se exemplificado o espectro de uma amostra de barril de sangria (espectro 3), em comparação com o espectro de vinho de cisterna (espectro 1) e vinho de barril (espectro 2). Foi possível concluir que os três espectros têm um perfil diferente, sendo que os picos do espectro de sangria tiveram uma intensidade menor, em comparação com os vinhos. Desta forma, confirmou-se que para a quantificação das amostras de sangria, seria necessário traçar retas de calibração com soluções-padrão de sangria, para a interpretação correta deste tipo de matriz.

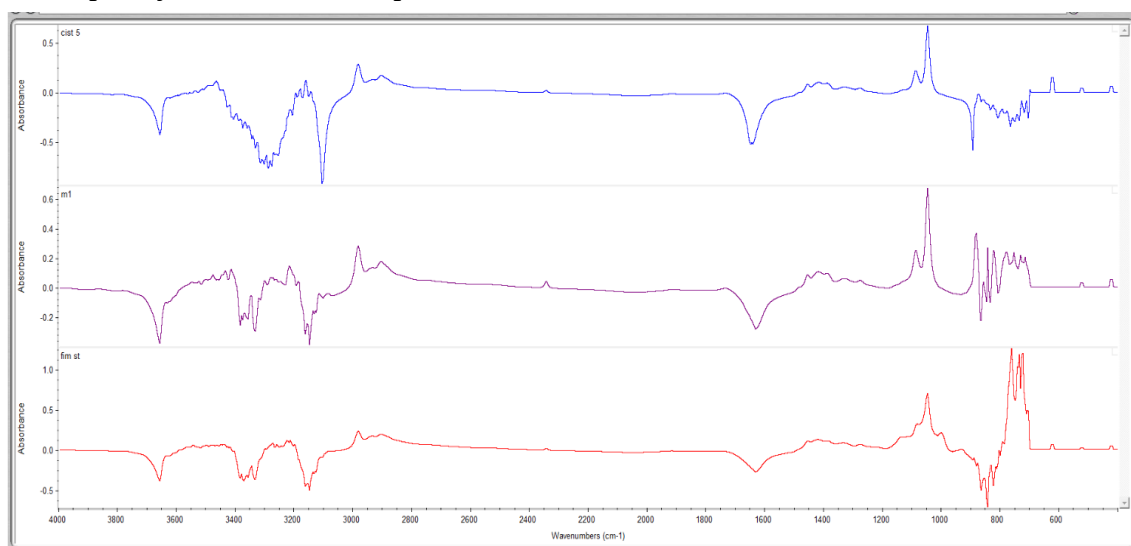


Figura 4. 15. Espectro (Absorvância (%)) vs. Número de onda (cm^{-1}) de uma amostra de vinho branco de cisterna (azul), de vinho branco de barril (violeta) e de barril de sangria (vermelho).

Embora, a sangria produzida teve origem no mesmo vinho utilizado, a concentração dos principais constituintes (álcool, açúcar, etc) varia significativamente e, também, possui outros componentes, como aromas e acidificantes, o que pôde influenciar os resultados obtidos. Para a construção das retas de calibração para a análise de amostras de sangria, torna-se necessário adquirir soluções-padrão com este tipo de matriz. Uma vez, traçadas as retas de calibração, poder-se-á proceder à avaliação da sua precisão e veracidade.

Como alternativa, recorreu-se a outros tipos de análise, como métodos convencionais e outros equipamentos disponíveis no laboratório. Para a determinação do teor alcoólico recorreu-se ao *Anton Paar*, para a densidade ao densímetro digital. A acidez total e volátil pôde ser determinada pelos métodos descritos no capítulo 2. No caso da

determinação do teor de açúcares, verificou-se que o método convencional aplicado para as amostras de vinho, não é aplicável, devido a concentrações elevadas nas amostras de sangria.

No sentido de testar a capacidade de resposta dos métodos de análise do teor alcoólico, nas amostras de sangria, foi avaliada a veracidade do método do FTIR, em comparação com os métodos clássicos, para uma amostra de sangria branca e uma de tinta. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 4.29. Verificou-se que os valores obtidos para a amostra de sangria branca foram semelhantes entre si, o erro relativo respetivo pode ser visto na tabela 4.30. Já para a sangria tinta, o FTIR apresentou um resultado afastado do previsto (7,00 % (v/v)), ao contrário dos métodos convencionais.

Tabela 4. 29. Teor alcoólico em % (v/v) das amostras de sangria branca e tinta, medido no FTIR, no Anton Paar, no Alcoómetro e através da conversão da densidade lida no densímetro digital.

Amostra	% (v/v) [FTIR]	% (v/v) [Alcoómetro]	% (v/v) [Anton Paar]	% (v/v) [Densímetro]
Sangria Branca	6,68	7,00	6,82	6,78
Sangria Tinta	3,64	6,83	6,72	6,71

Tabela 4. 30. Valores do erro relativo de resultados obtidos pelo FTIR, em comparação com alcoómetro, Anton Paar e densímetro digital, para amostras de sangria tinta, em %.

Amostra	Erro Relativo (%) FTIR/Alcoómetro	Erro Relativo (%) FTIR/Anton Paar	Erro Relativo (%) FTIR/Densímetro
Sangria Branca	-4,6	-2,1	-1,5

Como pode ser visto na tabela 4.30, o erro relativo foi inferior à 5% para todos os métodos, logo a veracidade foi satisfatória. Contudo, o valor apresentado pelo FTIR considerou indicativo, pois, esta concentração foi obtida aplicando as retas de calibração construídas com soluções-padrão de vinho. Os resultados obtidos pelos *Anton Paar* e densímetro digital, foram considerados como satisfatórios, porque encontram-se próximos do valor teoricamente previsto. O alcoómetro apresentou um valor de 7,00 % (v/v), sendo este igual ao valor alvo estabelecido pela *SBG*. Concluiu-se que, o uso de *Anton Paar* é possível para a análise das amostras de sangria, embora o FTIR, devidamente calibrado, seria capaz de dar resultados mais confiantes para este parâmetro, pois, foi destinado para a análise de vinhos, e o *Anton Paar* para cervejas.

5. Conclusão

O estágio decorreu na *Super Bock Group, SA*, no Laboratório Central e teve como objetivo a implementação do equipamento FTIR para a análise de teor alcoólico, massa volúmica, acidez total, acidez volátil e teor de açúcares totais e redutores, em vinho branco e sangria.

Os métodos de análise implementados foram avaliados pelos parâmetros de calibração, de repetibilidade, de precisão intermédia e de veracidade. Concluiu-se que, no caso dos métodos de análise de teor alcoólico, massa volúmica e acidez total, a precisão intermédia e a repetibilidade foram consideradas como satisfatória para os dois tipos de amostra. No caso de acidez volátil e teor de açúcares redutores, apenas foram aceitáveis para as amostras de vinho tinto. O parâmetro de açúcares totais apresentou a precisão intermédia e a repetibilidade razoáveis para as amostras de vinho branco. Desta forma, estes estudos não se podem considerar como concluídos até se realizarem os ajustes das retas de calibração, para retomar a avaliação dos métodos de acidez volátil, açúcares totais e redutores. Concluiu-se que os métodos da determinação de teor alcoólico, massa volúmica e acidez total apresentam veracidade satisfatória, baseando-se no erro relativo dos resultados em comparação com os métodos clássicos. No caso dos parâmetros de acidez volátil, teor de açúcares totais e redutores, não foi feita esta análise, uma vez que, é necessário completar as retas de calibração para possibilitar a inclusão de todos os tipos de amostras. Assim, uma vez feita essa melhoria, pode-se proceder à avaliação da veracidade dos métodos.

No período de estágio foi possível implementar, somente, os métodos para a análise de vinhos. Verificou-se que, no caso de acidez volátil, teor de açúcares totais e teor de açúcares redutores é necessário alargar o intervalo de trabalho para incluir todos os valores espetáveis de se obter.

Os métodos, de quantificação das amostras de sangria, não foram implementados, uma vez que, este tipo de amostras apresentam uma matriz diferente dos vinhos e, no período de estágio, não foi possível adquirir as soluções-padrão, com esta matriz, necessárias para a construção das retas de calibração respetivas. No entanto, as amostras de sangria foram analisadas pelos métodos convencionais.

6. Sugestões de trabalho futuro

Como se verificou, pela análise das retas de calibração de acidez volátil e do teor de açúcares redutores e totais, é necessário alargar o intervalo de trabalho, completando as retas com mais soluções-padrão. Uma vez feitas as novas retas de calibração, é preciso, proceder novamente ao estudo das variáveis estatísticas e, também, estudar a precisão, a reprodutibilidade e a veracidade das mesmas.

No caso de sangria, recomenda-se a construção de retas de calibração com soluções-padrão de sangria, devido a diferenças na matriz dos dois produtos.

7. Outros trabalhos realizados

Durante o período de estágio foram realizadas outras tarefas complementares.

Foi estudado e aplicado o método da determinação de anidrido sulfuroso livre e total, tanto pelo método clássico, como através do equipamento *TITRALAB AP100*. Foi também utilizado o equipamento *Check Stab Alfa 2016 MAGIC+* para a determinação da estabilidade tartárica, nos vinhos. Para os equipamentos mencionados foram elaborados métodos de controlo de qualidade. O mesmo se aplica ao FTIR. Foram estudados e aplicados métodos clássicos para a análise de pH, cinzas, ácido málico, ácido láctico, ácido tartárico, CO₂, cloretos, sulfatos e cor.

Foi, também, elaborado um estudo de análise de açúcares na sangria que tinha por objetivo a avaliação de diferentes métodos existentes e a sua comparação.

Como foi dito anteriormente, alguns dos métodos usados no FTIR precisam de ser completados com mais padrões para alargar a gama de trabalho. Foi conseguido um orçamento para as amostras necessárias da marca *TITRIVIN*, das empresas *ILC* e *Biosentec*, com o objetivo de encontrar a melhor proposta possível. Foi também feito um pedido de orçamento na Comissão de Vinhos Verdes.

Foram, também, estudados e utilizados alguns dos métodos de análise de cervejas, na secção de análises físico-químicas:

- Preparação das amostras de cerveja e análise das mesmas no Anton Paar;
- Determinação do teor de CO₂;
- Determinação da turvação a 0 °C e 20 °C;
- Determinação da estabilidade de espuma;
- Análises correntes na avaliação de águas de processo.
- Avaliação do grau Brix.

Referências bibliográficas

- [1] Super Bock Group. “História”. <https://www.superbockgroup.com/historia/> (Consultado a 26.12.2018)
- [2] Super Bock Group. “Os nossos produtos”. <https://www.superbockgroup.com/todos-os-produtos/> (Consultado a 26.12.2018)
- [3] Super Bock Group. “Onde Estamos”. <https://www.superbockgroup.com/onde-estamos/> (Consultado a 26.12.2018)
- [4] Revista Adega. “A história do Vinho”. (20.06.2016) https://revistaadega.uol.com.br/artigo/historia-do-vinho-e-o-vinho-na-historia_9693.html (Consultado a 04.01.2019)
- [5] Correia, C. A. C. (2011) “Espectroscopia de infravermelho na análise de mostos e vinhos”. Universidade de Aveiro. Departamento de Química.
- [6] Vida&Vinho. “Como o vinho é feito: conheça as 8 etapas do processo de produção do vinho”. (22.11.2016) <http://vidaevinho.com/processo-de-producao-do-vinho-2/> (Consultado a 08.01.2019)
- [7] Jackson, R. S., (2008) Wine Science, Principles and Applications. 3rd ed.; Elsevier Inc. (pág.357).
- [8] Clube de vinhos portugueses. “Produção e fermentação, linhas gerais”. <https://www.clubevinhosportugueses.pt/vinhos/producao-e-fermentacao-linhas-gerais/> (Consultado a 08.01.2019)
- [9] afg alimentar. “Tipos de vinho”. <http://www.afg.com.pt/alimentar/pages/display/types-of-wine/language:PT> (Consultado a 08.01.2019)
- [10] Vida&Vinho. “Vinhos brancos: uma introdução aos vinhos que combinam perfeitamente com o verão”. (03.05.2016) <http://vidaevinho.com/vinhos-brancos/> (Consultado a 08.01.2019)

- [11] Super Bock Group. <https://www.superbockgroup.com/produto/tinta-vini/> (Consultado a 08.01.2019)
- [12] https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/4432/4432_4.PDF (Consultado a 15.02.2019)
- [13] <https://www.ufsj.edu.br/portal2repositorio/File/frankimica/Quimica%20Analitica%20Aplicada%20II/Espectroscopia%20no%20infravermelho.pdf> (Consultado a 15.02.2019)
- [14] Bauer, R. N.; Bauer, F. F.; Kossmann, J.; Koch, K. R.; Esbensen, K. H. “FTIR Spectroscopy for Grape and Wine Analysis”. 2008. American Chemical Society.
- [15] Regulamento CEE n.º 2676/90.
- [16] Infrared Spectroscopy.
<https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/infrared/infrared.htm> (Consultado a 15.02.2019)
- [17] Bicas.T.C., Fernandes.A., Prasniewski.A., Calegari.M.A., Lima.V.A., Oldoni.T.L.C., “Uso da Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (IV-TF) e quimiometria para classificação de vinhos e suco de uva”. 2017. Brazilian Journal of Food Research. ISSN: 2448-3184.
- [18] Instituto da Vinho e do Vinho. “Parâmetros Analíticos. Portugal.” <http://www.ivv.gov.pt/np4/89/> (Consultado a 08.01.2019)
- [19] Nota Técnica Acidez Volátil Vinhos DOP Douro. (2008/2015). IVDP, I.P. (Consultado a 08.01.2019)
- [20] Portaria 610/72, de 14 de outubro. <https://dre.tretas.org/dre/234653/portaria-610-72-de-14-de-outubro> (Consultado a 08.01.2019)
- [21] Vinho Verde. “Produtos – Regras de conformidade”. <http://portal.vinhoverde.pt/pt/produtos-regras-de-conformidade/GVVT> (Consultado a 08.01.2019)
- [22] Ribéreau-Gayon, P. G.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. (2006) Handbook of Enology, Volume 2, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. 2nd ed.; John Wiley & Sons, Ltd.

- [23] Vieira.J.B., “Processo de espumantização: Abordagem ao controlo analítico e metrológico”. (Versão provisória). Coimbra. 2014. Instituto Politécnico de Coimbra. Escola Superior Agrária. Mestrado em Engenharia Alimentar.
- [24] Barreira A.M.R., “Atividade Antioxidante de Aguardentes Vínicas Envelhecidas Portuguesas e Francesas”. Beja. 2009. Instituto Politécnico de Beja. Escola Superior Agrária. Mestrado em Engenharia Alimentar.
- [25] NP 2143 - Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor alcoólico em volume (grau alcoólico volumétrico).
- [26] Norma NP 2140 - Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação da acidez volátil.
- [27] NP 2139 - Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de acidez total.
- [28] NP 2223 - Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de açúcares redutores. Método de Luff-Schoorl.
- [29] NP 2224 - Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação do teor de açúcares totais. Método de Luff-Schoorl.
- [30] NNP 2142 - Bebidas alcoólicas e espirituosas. Determinação da massa volúmica e densidade relativa.
- [31] Guia Relacre 13 – Validação de Métodos Internos de ensaio em Análise Química. ISBN: 972-8574-02-9. Edição Fevereiro 2000.
- [32] TDI. Manual de utilizador – Bacchus 3. (11.07.2013)
- [33] Alcoômetro Gay Lussac. <https://www.lojasynth.com/termometros/alcoometros-gay-lussac/alcoometro-alcoolometro-gay-lussac> (Consultado a 12.06.2019)
- [34] Super Bock Group. “Monte Sacro Branco”. <https://www.superbockgroup.com/produto/branco-monte-sacro/> (Consultado a 08.01.2019)
- [35] Super Bock Group. “Monte Sacro Tinto”. <https://www.superbockgroup.com/produto/tinto-montesacrotinto/> (Consultado a 08.01.2019)

[36] Super Bock Group. “Sangria Vini Branca”.
<https://www.superbockgroup.com/produto/branca-vini/> (Consultado a 08.01.2019)

Anexo A – Fichas Técnicas

A.1 - Monte Sacro Branco [34]



Monte Sacro Branco 2007

Características do Produto:

- Cor: Citrina
- Sabor: Frutado, fresco e equilibrado
- Aroma: Sobressaem os aromas florais
- Álcool: 12,1 %
- Acidez: 5,25 g/dm³
- pH: 3,3

Ano de colheita: 2007

Contém sulfitos

Cuidados a ter:

Proteger da luz, calor, humidade e odores fortes.

Prazo de consumo preferencial: não aplicável

Capacidades:

0,75 l; 0,375 l

A Unicer recomenda:

- Não utilizar as embalagens para colocar outro tipo de produto.
- As embalagens devem ser abertas no momento do consumo pelo consumidor ou na sua presença.
- As embalagens de tara perdida depois de utilizadas devem ser colocadas no ecoponto.
- Beba com Responsabilidade. Consulte www.serresponsavel.com.pt

Data última actualização: 17/08/2011

Este produto cumpre com o regulamentado em Portugal e na União Europeia

A.2 - Monte Sacro Tinto [35]



Monte Sacro Tinto 2007

Características do Produto:

- Cor: Rubi
- Sabor: Frutado e equilibrado
- Aroma: Sobressaem os aromas a frutos vermelhos maduros com ligeiras notas vegetais frescas
- Álcool: 12,8%
- Acidez: 5,20 g/dm³
- pH: 3,75

Ano de colheita: 2007

Contém sulfitos

Cuidados a ter:

Proteger da luz, calor, humidade e odores fortes.

Prazo de consumo preferencial: não aplicável

Capacidades:

0,75 l; 0,375 l

A Unicer recomenda:

- Não utilizar as embalagens para colocar outro tipo de produto.
- As embalagens devem ser abertas no momento do consumo pelo consumidor ou na sua presença.
- As embalagens de tara perdida depois de utilizadas devem ser colocadas no ecoponto.
- Beba com Responsabilidade. Consulte www.serresponsavel.com.pt

Data última actualização: 17/08/2011

Este produto cumpre com o regulamentado em Portugal e na União Europeia

A.3 - Vini Tinta [11]



Vini Sangria Tinta

Este produto cumpre com o regulamentado em Portugal e na União Europeia.

Denominação de venda:

Vini Sangria Tinta

Características do Produto:

- Cor: Ruby
- Aroma: Frutado e fresco
- Sabor: Frutado intenso com alguma doçura e ligeiro gás.
- pH: 3,5
- Acidez Total % (g/L): 4,0
- Álcool (% v/v): 7,0

Ingredientes:

Vinho tinto, água, açúcar, dióxido de carbono, aroma natural de limão, acidificante (E330), estabilizadores (E414 e E445), edulcorante (E950), conservante (E202) e aroma natural de canela.

Prazo de consumo preferencial:

6 meses – Barril

Cuidados a ter:

Proteger da luz, calor, humidade e odores fortes.

Capacidades:

20l

Alergénios:

Contém Sulfitos

A Unicer recomenda:

- Não utilizar as embalagens para colocar outro tipo de produto.
- Beba com Responsabilidade. Consulte www.serresponsavel.com.pt

Data última actualização: 12/08/2015

A.4 - Vini Branca [36]

Vini Sangria Branca



Este produto cumpre com o regulamentado em Portugal e na União Europeia.

Denominação de venda:

Vini Sangria Branca

Características do Produto:

- Cor: Branco
- Aroma: Frutado e fresco
- Sabor: Frutado intenso com alguma doçura e ligeiro gás.
- pH: 3,4
- Acidez Total % (g/L): 4,0
- Álcool (% v/v): 7,0

Ingredientes:

Vinho branco, água, açúcar, dióxido de carbono, aromas naturais, edulcorante (E950), conservante (E202).

Prazo de consumo preferencial:

6 meses – Barril

Cuidados a ter:

Proteger da luz, calor, humidade e odores fortes.

Capacidades:

20 L

Alergénios:

Contém Sulfitos

A Unicer recomenda:

- Não utilizar as embalagens para colocar outro tipo de produto.
- Beba com Responsabilidade. Consulte www.serresponsavel.com.pt

Data última actualização: 09/09/2016

Anexo B – Reagentes e Soluções

B.1 - Soluções utilizadas no FTIR

➤ Solução de lavagem

- Preparação:

0,5 L de água desionizada + 10 ml de solução concentrada.

- Características:

A solução concentrada é da marca TDI (Lote: A1-18283). Frases de perigo/prudência: H314; P280; P310; P305+P351+P338.

➤ Solução de lixívia

- Preparação:

Diluir 30 mL de uma solução comercial de lixívia em 250 mL de água desionizada para obter uma solução a 5%.

- Características:

Frases de perigo/prudência: R31; R36; S26; S2.

➤ Solução de background

- Preparação:

1 L de água desionizada + 0,4 mL de Triton.

- Características:

A solução de Triton é da marca TDI (Lote: C1-18403).

B.2 - Fichas Técnicas TITRIVIN

As fichas técnicas disponibilizadas neste anexo podem ser consultadas no site oficial da marca. As fichas técnicas de outras soluções TITRIVIN de interesse, podem ser solicitadas no mesmo site ou no fornecedor.



République Française
MATERIAU DE REFERENCE POUR LABORATOIRES D'ŒNOLOGIE
REFERENCE MATERIAL FOR ŒNOLOGY LABORATORY

TITRIVIN AA1

Lot / batch A 03151220 1

Certificat d'analyses
Certificate of analysis

Approbation et autorisation de publication :



Première édition - version 00 : novembre 2015
First edition - version 00 : november 2015

La reproduction de ce certificat d'analyses n'est autorisée que sous sa forme intégrale - il comprend deux pages.
Reproduction of the certificate is permitted only in its integral form - it includes two pages.

Valeurs de référence certifiées / Certified reference values						
Paramètres Parameters	Principes des méthodes Methods principles	Valeur de référence Reference value	Intervalle de confiance (k=2) Confidence interval (k=2)		Intervalle d'acceptation (k=2) Acceptance interval (k=2)	
			Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit	Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit
Titre alcoolométrique vol. (%) / Alcoholic strength (% vol.)	Distillation ou entraînement à la vapeur + Pycnométrie ou densimétrie électronique Distillation + pycnometry, or electronic densimetry	9,46	9,42	9,50	9,40	9,52
Glucose + fructose (g/L) / Glucose + fructose (g/L)	Méthode enzymatique + spectrométrie Enzymatic method + spectrometry	0,87	0,83	0,91	0,79	0,95
pH / pH	Potentiométrie Potentiometry	3,41	3,39	3,43	3,37	3,45
Acidité totale(*) / Total acidity(*)						
⇒ g H ₂ SO ₄ /L	Titration en présence de Bleu de bromothymol Titration with bromothymol blue	2,62	2,58	2,66	2,46	2,78
⇒ g acide tartrique/L / g tartaric acid/L		4,01	3,95	4,07	3,77	4,26
⇒ meq/L		53,5	52,7	54,3	50,2	56,7
Acidité volatile / Volatile acidity						
⇒ g H ₂ SO ₄ /L	Entraînement à la vapeur + titrimétrie Distillation + titration	0,24	0,22	0,26	0,20	0,28
⇒ g acide acétique/L / g acetic acid/L		0,29	0,27	0,32	0,24	0,34
⇒ meq/L		4,9	4,5	5,3	4,1	5,7
Acide acétique (g/L) / Acetic acid (g/L)	Méthode enzymatique + spectrométrie Enzymatic method + spectrometry	0,28	0,25	0,31	0,24	0,32
Acide L-malique (g/L) / L-malic acid (g/L)	Méthode enzymatique + spectrométrie Enzymatic method + spectrometry	0,24	0,21	0,27	0,18	0,30

Valeurs de référence informatives / Informative reference values						
Paramètres Parameters	Principe des méthodes Methods	Valeur de référence Reference value	Intervalle de confiance (k=2) Confidence interval (k=2)		Intervalle d'acceptation (k=2) Acceptance interval (k=2)	
			Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit	Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit
Acide L-lactique (g/L) / L-lactic acid (g/L)	Méthode enzymatique + spectrométrie Enzymatic method + spectrometry	0,90	0,85	0,95	0,76	1,04
Substances réductrices (g/L) / Reducing sugars (g/L)	Décoloration + iodométrie (Löff) ou Flux continu Méocuprine Decoloration + iodometry or streaming neocuprine	1,90	1,75	2,05	1,40	2,40

Description / Description

Le TITRIVIN AA1 est un assemblage de vins de différentes origines. Il est préparé et stabilisé selon les techniques et procédés usuels en œnologie (collage, filtration et stabilisation tartrique par le froid). Il est présenté en ampoules verre deux-pointes de 10 mL / The TITRIVIN AA1 is a blend of wines from different sources. It is prepared and stabilized in accordance with the techniques and processes used in oenology (collage, fining and tartaric stabilization). Glass ampoules - nominal capacity 10 mL.

Utilisation prévue / Use

Mode d'emploi / Instruction

Le TITRIVIN est utilisable tel quel immédiatement après ouverture de l'ampoule. Cependant, il convient d'avoir pris soin d'homogénéiser le contenu de l'ampoule avant son ouverture. / The TITRIVIN be used as such immediately after opening. It should be careful to homogenize the contents before opening.

Volume minimal d'essai / Minimum sample size

La prise minimale d'essai est fixée à 3 µL. Le producteur ne garantit pas les valeurs de référence en cas d'utilisation d'un sous-échantillon plus petit. / The minimum sample size is 3 µL. The producer doesn't guarantee the reference values when using a smaller subsample.

Conservation / Storage

Avant ouverture, les ampoules doivent être stockées à l'abri de la lumière entre 5°C et 25°C. Une ampoule ouverte doit être utilisée dans la journée. / Before opening, ampoules must be kept away from light between 5 °C and 25 °C. After opening, ampoules should be used immediately.

Emplois prévus / Intended uses

Le TITRIVIN peut être utilisé :

- ✓ Pour étalonner ou ajuster les instruments de mesures / To calibrate equipment,
- ✓ Pour réaliser le contrôle qualité interne des mesures / To carry out quality control,
- ✓ Pour estimer les incertitudes / To assess uncertainties.

Homogénéité / Homogeneity

L'homogénéité du matériau est vérifiée sur un échantillon d'ampoules prélevées de manière aléatoire au cours du conditionnement pour lequel deux sous-échantillons par ampoule sont analysés. / The homogeneity is checked on ampoules sampled randomly during packaging and for which two subsamples per ampoule are analyzed.

Pour l'ensemble des paramètres, l'homogénéité inter-unités observée a été jugée acceptable. / For all parameters, the observed between-bottle homogeneity was declared acceptable.

Stabilité / Stability

Des études de stabilité ont permis de montrer la stabilité du matériau au cours des conditions de transport et de conservation préconisées. / A short-term stability study has shown the material stability during recommended transport and storage conditions.

Par ailleurs, le TITRIVIN est soumis à une surveillance régulière jusqu'à épuisement des stocks par un suivi bimestriel par notre laboratoire. / In addition, a regular monitoring is in place by our laboratory each two months until out of stock.

Valeurs de référence / Reference values

Les valeurs ont été établies à partir des résultats d'une campagne d'essais impliquant 39 laboratoires d'œnologie accrédités par le COFRAC. Le traitement statistique des résultats applique les algorithmes d'estimation robustes de moyennes et d'écart-types de la norme ISO 5725-5 repris dans la norme ISO 13528. / Values were determined from the results of a series of tests involving about 42 oenology laboratories, accredited by COFRAC (French Accreditation Committee). Statistical calculation of the results was done as defined in the ISO 5725-5 and ISO 13528 standards.

Les valeurs de référence sont « certifiées » lorsque le nombre de participants est supérieur ou égal à 15 et que tous les participants sont accrédités par le COFRAC pour la méthode appliquée. Si ces critères ne sont pas respectés, la valeur de référence est « informative » et donnée à titre d'indicatif. / The reference values are "certified" when the number of participants is greater than or equal to 15 and that all participants are accredited by COFRAC for the method used. If these criteria are not met, the reference value is "informative" and given as an indication.

Méthodes d'analyses appliquées / Methods of analysis

Les participants ont réalisé les analyses selon les méthodes de référence OIV lorsqu'elles existent ou par défaut, une méthode interne validée reprenant le principe des méthodes OIV proposées. / Participants performed analyzes using the OIV reference methods when available or by default, an internal method validated taking the principle of the OIV reference methods.

Traçabilité métrologique et Raccordement / Metrological traceability

Les valeurs de références certifiées sont basées uniquement sur l'exploitation statistique de résultats d'analyses obtenus par des méthodes accréditées par le COFRAC. L'accréditation par le COFRAC des méthodes utilisées assure le respect de la traçabilité métrologique et le raccordement au SI des résultats et par conséquent des valeurs de référence issues du traitement statistique. / Certified reference values are premised on results obtained by methods accredited by COFRAC. This accreditation ensures the metrological traceability to SI units of the results and the reference values from the statistical calculation.

Intervalle de confiance / Confidence interval

Il correspond à l'incertitude sur la valeur de référence avec $k=2$ pour un niveau de confiance de 95 %. C'est-à-dire que la valeur "vraie" de ce paramètre est comprise dans l'intervalle $[V_{ref} - i ; V_{ref} + i]$. / This corresponds to the uncertainty of the reference value with $k = 2$. Each value is expressed with a confidence interval of the mean above or equal to 95 %. This means the "true" value of this parameter is between $[V_{ref} - u ; V_{ref} + u]$.

Intervalle d'acceptation / Acceptance interval

Il correspond à la variation maximum qu'un laboratoire peut se fixer autour de la valeur attribuée au TITRIVIN lors d'une analyse. / For one analysis, this corresponds to the maximale value that a laboratory can accept for the reference value.

Période de validité / Validity

Les valeurs indiquées sur ce certificat sont valables jusqu'en décembre 2020. / The values shown in this certificate is valid until December 2020.

Les acheteurs seront avertis de ces éventuelles mises à jour. / We will inform the buyers of the possible updates of this certificat.



République Française

MATERIAU DE REFERENCE POUR LABORATOIRES D'ENOLOGIE
REFERENCE MATERIAL FOR OENOLOGY LABORATORY

TITRIVIN AA2

Lot / batch A 03151220 2

Approbation et autorisation de publication :



Certificat d'analyses
Certificate of analysis

Edition n°1 version 00 – juin 2016

La reproduction de ce certificat d'analyses n'est autorisée que sous sa forme intégrale – Il comprend deux pages.
Reproduction of the certificate is permitted only in its integral form – It includes two pages.

Valeurs de référence certifiées / Certified reference values				
Paramètres Parameters	Principes des méthodes Methods principles	Valeur de référence Reference value	Intervalle de confiance (k=2) Confidence interval (k=2)	
			Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit
Titre alcoométrique vol. (%) / Alcoholic strength (% vol.)	Distillation ou entraînement à la vapeur + Pycnométrie ou densimétrie électronique Distillation + pycnometry, or electronic densimetry	10,87	10,83	10,91
Glucose + fructose (g/L) / Glucose + fructose (g/L)	Méthode enzymatique + spectrométrie Enzymatic method + spectrometry	3,91	3,79	4,03
pH / pH	Potentiométrie Potentiometry	3,34	3,32	3,36
Acidité totale^(*) / Total acidity^(*) ⇒ g H ₂ SO ₄ /L ⇒ g acide tartrique/L / g tartaric acid/L ⇒ meq/L	Titration potentiométrique ou en présence de Bleu de Bromothymol Titration potentiometric or with bromothymol blue	3,07 4,70 62,7	3,02 4,62 61,6	3,12 4,78 63,7
Acidité volatile / Volatile acidity ⇒ g H ₂ SO ₄ /L ⇒ g acide acétique/L / g acetic acid/L ⇒ meq/L	Entraînement à la vapeur + titrimétrie Distillation + titration	0,35 0,43 7,1	0,33 0,40 6,7	0,37 0,45 7,6
Acide acétique (g/L) / Acetic acid (g/L)	Méthode enzymatique + spectrométrie Enzymatic method + spectrometry	0,41	0,38	0,44
Acide L-malique (g/L) / L-malic acid (g/L)	Méthode enzymatique + spectrométrie Enzymatic method + spectrometry	0,85	0,81	0,89
Valeurs de référence informatives / Informative reference values				
Paramètres Parameters	Principe des méthodes Methods	Valeur de référence Reference value	Intervalle de confiance (k=2) Confidence interval (k=2)	
			Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit
Substances réductrices (g/L) / Reducing sugars (g/L)	Déféction + iodométrie (Lüff) ou Flux continu Néocuproline Defecation + iodometry or streaming neocuproline	5,12	4,86	5,38
Acide L-lactique (g/L) / L-lactic acid (g/L)	Méthode enzymatique + spectrométrie Enzymatic method + spectrometry	0,73	0,69	0,77

Les valeurs de références informatives sont données à titre indicatif.

Description / Description

Le TITRIVIN AA2 est un assemblage de vins de différentes origines. Il est préparé et stabilisé selon les techniques et procédés usuels en œnologie (collage, filtration et stabilisation tartrique par le froid). Il est présenté en ampoules verre de 10 mL / The TITRIVIN AA2 is a blend of wines from different sources. It is prepared and stabilized in accordance with the techniques and processes used in oenology (collage, fining and tartaric stabilization). Glass ampoule - nominal capacity 10 mL.

Utilisation prévue / Use

Mode d'emploi / Instruction

Le TITRIVIN est utilisable tel quel immédiatement après ouverture de l'ampoule. Cependant, il convient d'avoir pris soin d'homogénéiser le contenu de l'ampoule avant son ouverture. / The TITRIVIN be used as such immediately after opening. It should be careful to homogenize the contents before opening.

Volume minimal d'essai / Minimum sample size

La prise minimale d'essai est fixée à 3 µL. Le producteur ne garantit pas les valeurs de référence en cas d'utilisation d'un sous-échantillon plus petit. / The minimum sample size is 3 µl. The producer doesn't guarantee the reference values when using a smaller subsample.

Conservation / Storage

Avant ouverture, les ampoules doivent être stockées à l'abri de la lumière entre 5°C et 25°C. A utiliser immédiatement après ouverture. / Before opening, ampoules must be kept away from light between 5 °C and 25 °C. After opening, TITRIVIN should be used immediately.

Emplois prévus / Intended uses

Le TITRIVIN peut être utilisé :

- ✓ Pour étalonner ou ajuster les instruments de mesures / To calibrate equipment,
- ✓ Pour réaliser le contrôle qualité interne des mesures / To carry out quality control,
- ✓ Pour estimer les incertitudes / To assess uncertainties.

Homogénéité / Homogeneity

L'homogénéité du matériau est vérifiée sur un échantillon d'ampoules prélevées de manière aléatoire au cours du conditionnement pour lequel deux sous-échantillons par ampoule sont analysés. / The homogeneity is checked on ampoules sampled randomly during packaging and for which two subsamples per ampoule are analyzed.

Par l'ensemble des paramètres, l'homogénéité inter-unités observée a été jugée acceptable. / For all parameters, the observed between-bottle homogeneity was declared acceptable.

Stabilité / Stability

Des études de stabilité ont permis de montrer la stabilité du matériau au cours des conditions de transport et de conservation préconisées. / A short-term stability study has shown the material stability during recommended transport and storage conditions.

Par ailleurs, le TITRIVIN est soumis à une surveillance régulière jusqu'à épuisement des stocks par un suivi bimestriel par notre laboratoire / In addition, a regular monitoring is in place by our laboratory each two months until out of stock.

Valeurs de référence / Reference values

Les valeurs de référence ont été établies à partir des résultats d'une campagne d'essais impliquant 42 laboratoires d'œnologie accrédités par le COFRAC. Le traitement statistique des résultats applique les algorithmes d'estimation robustes de moyennes et d'écart-types de la norme ISO 5725-5 repris dans la norme ISO 13528. / Values were determined from the results of a series of tests involving about 42 oenology laboratories, accredited by COFRAC (French Accreditation Committee). Statistical calculation of the results was done as defined in the ISO 5725-5 and ISO 13528 standards.

Les valeurs de référence sont « certifiées » lorsque le nombre de participants est supérieur ou égal à 15 et que tous les participants sont accrédités par le COFRAC pour la méthode appliquée. Si ces critères ne sont pas respectés, la valeur de référence est « informative » et donnée à titre d'indicateur. / The reference values are "certified" when the number of participants is greater than or equal to 15 and that all participants are accredited by COFRAC for the method used. If these criteria are not met, the reference value is "informative" and given as an indication.

Méthodes d'analyses appliquées / Methods of analysis

Les participants ont réalisé les analyses selon les méthodes de référence OIV lorsqu'elles existent ou par défaut, une méthode interne validée reprenant le principe des méthodes OIV proposées. / Participants performed analyzes using the OIV reference methods when available or by default, an internal method validated taking the principle of the OIV reference methods.

Traçabilité métrologique et Raccordement / Metrological traceability

Les valeurs de références certifiées sont basées uniquement sur l'exploitation statistique de résultats d'analyses obtenus par des méthodes accréditées par le COFRAC. L'accréditation par le COFRAC des méthodes utilisées assure le respect de la traçabilité métrologique et le raccordement au SI des résultats et par conséquent des valeurs de référence issues du traitement statistique. / Certified reference values are premised on results obtained by methods accredited by COFRAC. This accreditation ensures the metrological traceability to SI units of the results and the reference values from the statistical treatment.

Intervalle de confiance / Confidence interval

Il correspond à l'intervalle $[V_{ref} - U ; V_{ref} + U]$, où U correspond à l'incertitude élargie sur la valeur de référence avec $k=2$. / This corresponds to $[V_{ref} - u ; V_{ref} + u]$ the uncertainty of the reference value with $k = 2$.

Période de validité / Validity

Les valeurs indiquées sur ce certificat sont valables jusqu'en décembre 2020. / The values shown in this certificate is valid until December 2020.

Les acheteurs seront avertis de ces éventuelles mises à jour. / We will inform the buyers of the possible updates of this certificat.

Elles seront aussi publiées sur le site www.titrivin.com. / You will find its on our website www.titrivin.com.



République Française

MATERIAU DE REFERENCE POUR LABORATOIRES D'ŒNOLOGIE
REFERENCE MATERIAL FOR ŒNOLOGY LABORATORY

TITRIVIN AA3

Certificat d'analyses Certificate of analysis

Première édition - version 00 : septembre 2014
First edition - version 00 : september 2014

Lot / batch A 03141219 3

Paramètres Parameters	Valeur de référence Reference value	Intervalle de confiance (k=2) Confidence interval (k=2)		Intervalle d'acceptation (k=2) Acceptance interval (k=2)	
		Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit	Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit
Titre alcoolométrique vol. (%) / Alcoholic strength (% vol.)	12,40	12,36	12,44	12,28	12,52
Sucres réducteurs (g/L) / Reducing sugars (g/L)	7,35	7,13	7,57	6,11	8,59
Glucose + fructose (g/L) / Glucose + fructose (g/L)	6,01	5,83	6,19	5,63	6,39
pH / pH	3,35	3,33	3,37	3,31	3,39
Acidité totale ^(*) / Total acidity ^(*)	3,45	3,40	3,50	3,31	3,59
⇒ g H ₂ SO ₄ /L	5,28	5,21	5,36	5,07	5,50
⇒ g acide tartrique/L / g tartaric acid/L	70,4	69,4	71,4	67,6	73,3
Acidité volatile / Volatile acidity	0,44	0,42	0,46	0,40	0,48
⇒ g H ₂ SO ₄ /L	0,54	0,51	0,56	0,49	0,59
⇒ g acide acétique/L / g acetic acid/L	9,0	8,6	9,4	8,2	9,8
Acide acétique (g/L) / Acetic acid (g/L)	0,52	0,49	0,55	0,46	0,58
Acide L-malique (g/L) / L-malic acid (g/L)	1,58	1,50	1,66	1,28	1,88
Acide L-lactique (g/L) / L-lactic acid (g/L)	0,48	0,45	0,51	0,36	0,60
Matériau / Material Assemblage de vins et de moûts de différentes origines. Blend of wines and musts from different sources. Préparation / Preparation Selon les techniques et procédés usuels en œnologie. In accordance with the techniques and processes used in oenology. Conditionnement / Packaging En ampoules verre de 10 mL. Réalisé par un laboratoire pharmaceutique. By Pharmaceutical Products Factory. Glass ampoules - nominal capacity 10 mL. Homogénéité / Homogeneity Contrôle effectué sur 2^o/∞ des ampoules prélevées au cours du conditionnement. L'effectif du lot est déterminé grâce à la norme ISO 2859-1. Control test performed on 2^o/∞ of ampoules sampled at regular intervals during packaging. The size of the batch is defined by ISO 2859-1 standard. Stabilité / Stability Suivi mensuel par notre laboratoire jusqu'à épuisement des stocks. Checked by our laboratory each month until out of stock. Conservation / Storage A l'abri de la lumière entre 5 °C et 25 °C. Away from light between 5 °C and 25 °C. Ampoules à usage unique pour utilisation immédiate après ouverture. / Expendable ampoules to be used immediately after opening.					
Valeurs de référence / Reference values Les valeurs ont été établies à partir des résultats d'une chaîne d'essais impliquant 42 laboratoires d'œnologie accrédités par le COFRAC. Le traitement statistique des résultats applique les algorithmes d'estimation robustes de moyennes et d'écart-types de la norme ISO 5725-5 repris dans la norme ISO 13528. Values were determined from the results of a series of tests involving about 42 oenology laboratories, accredited by COFRAC (French Accreditation Committee). Statistical calculation of the results was done as defined in the ISO 5725-5 and ISO 13528 standards. Intervalle de confiance / Confidence interval Il correspond à l'incertitude sur la valeur de référence avec k=2 pour un niveau de confiance de 95 %. C'est-à-dire que la valeur "vraie" de ce paramètre est comprise dans l'intervalle [Vréf - i ; Vréf + i]. This corresponds to the uncertainty of the reference value with k = 2. Each value is expressed with a confidence interval of the mean above or equal to 95 %. This means the "true" value of this parameter is between [Vref - u ; Vref + u]. Intervalle d'acceptation / Acceptance interval Il correspond à la variation maximum qu'un laboratoire peut se fixer autour de la valeur attribuée au TITRIVIN lors d'une analyse. For one analysis, this corresponds to the maximum value that a laboratory can accept for the reference value. Utilisation prévue / Use ✓ Etalonnage des appareils de mesures / To calibrate equipment. ✓ Contrôle qualité des mesures / To carry out quality control. ✓ Estimation des incertitudes / To assess uncertainties.					



République Française

MATERIAU DE REFERENCE POUR LABORATOIRES D'ŒNOLOGIE
REFERENCE MATERIAL FOR ŒNOLOGY LABORATORY

TITRIVIN AA4

Certificat d'analyses Certificate of analysis

Première édition - version 00 : septembre 2014
First edition - version 00 : september 2014

Lot / batch A 03141219 4

Paramètres Parameters	Valeur de référence Reference value	Intervalle de confiance (k=2) Confidence interval (k=2)		Intervalle d'acceptation (k=2) Acceptance interval (k=2)	
		Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit	Borne inf. Inferior limit	Borne sup. Superior limit
Titre alcoolométrique vol. (%) / Alcoholic strength (% vol.)	13,69	13,64	13,74	13,57	13,81
Sucres réducteurs (g/L) / Reducing sugars (g/L)	9,36	9,08	9,64	8,06	10,66
Glucose + fructose (g/L) / Glucose + fructose (g/L)	8,01	7,77	8,25	7,51	8,51
pH / pH	3,33	3,31	3,35	3,29	3,37
Acidité totale^(*) / Total acidity^(*)	4,23	4,17	4,29	4,11	4,35
⇒ g H ₂ SO ₄ /L	6,48	6,38	6,57	6,29	6,66
⇒ g acide tartrique/L / g tartaric acid/L	86,3	85,1	87,6	83,9	88,8
⇒ meq/L					
Acidité volatile / Volatile acidity	0,60	0,58	0,62	0,56	0,64
⇒ g H ₂ SO ₄ /L	0,73	0,71	0,76	0,69	0,78
⇒ g acide acétique/L / g acetic acid/L	12,2	11,8	12,7	11,4	13,1
⇒ meq/L					
Acide acétique (g/L) / Acetic acid (g/L)	0,72	0,67	0,77	0,62	0,82
Acide L-mallique (g/L) / L-malic acid (g/L)	2,71	2,57	2,85	2,23	3,19
Acide L-lactique (g/L) / L-lactic acid (g/L)	0,20	0,17	0,23	0,10	0,30

Matériau / Material

Assemblage de vins et de moûts de différentes origines.
Blend of wines and musts from different sources.

Préparation / Preparation

Selon les techniques et procédés usuels en œnologie.
In accordance with the techniques and processes used in oenology.

Conditionnement / Packaging

En ampoules verre de 10 mL. Réalisé par un laboratoire pharmaceutique.

By Pharmaceutical Products Factory. Glass ampoules - nominal capacity 10 mL.

Homogénéité / Homogeneity

Contrôle effectué sur 2^o/_{oo} des ampoules prélevées au cours du conditionnement. L'effectif du lot est déterminé grâce à la norme ISO 2859-1.

Control test performed on 2^o/_{oo} of ampoules sampled at regular intervals during packaging. The size of the batch is defined by ISO 2859-1 standard.

Stabilité / Stability

Suivi mensuel par notre laboratoire jusqu'à épuisement des stocks.
Checked by our laboratory each month until out of stock.

Conservation / Storage

A l'abri de la lumière entre 5 °C et 25 °C.
Away from light between 5 °C and 25 °C.

Ampoules à usage unique pour utilisation immédiate après ouverture.
/ Expendable ampoules to be used immediately after opening.

Valeurs de référence / Reference values

Les valeurs ont été établies à partir des résultats d'une chaîne d'essais impliquant 42 laboratoires d'œnologie accrédités par le COFRAC. Le traitement statistique des résultats applique les algorithmes d'estimation robustes de moyennes et d'écart-types de la norme ISO 5725-5 repris dans la norme ISO 13528.

Values were determined from the results of a series of tests involving about 42 oenology laboratories, accredited by COFRAC (French Accreditation Committee). Statistical calculation of the results was done as defined in the ISO 5725-5 and ISO 13528 standards.

Intervalle de confiance / Confidence interval

Il correspond à l'incertitude sur la valeur de référence avec k=2 pour un niveau de confiance de 95 %. C'est-à-dire que la valeur "vraie" de ce paramètre est comprise dans l'intervalle [V_{réf} - i ; V_{réf} + i].

This corresponds to the uncertainty of the reference value with k = 2. Each value is expressed with a confidence interval of the mean above or equal to 95 %. This means the "true" value of this parameter is between [V_{ref} - u ; V_{ref} + u].

Intervalle d'acceptation / Acceptance interval

Il correspond à la variation maximum qu'un laboratoire peut se fixer autour de la valeur attribuée au TITRIVIN lors d'une analyse.

For one analysis, this corresponds to the maximale value that a laboratory can accept for the reference value.

Utilisation prévue / Use

- ✓ Etalonnage des appareils de mesures / To calibrate equipment.
- ✓ Contrôle qualité des mesures / To carry out quality control.
- ✓ Estimation des incertitudes / To assess uncertainties.

**CERTIFICAT D'ANALYSES
DE MATERIAU DE REFERENCE
POUR LABORATOIRES D'OENOLOGIE**

*Reference material certificate of analysis
For oenology laboratories*

Code matériau : **TITRIVIN AA5**
Material code :
n° de lot : **A 03171222 5**
Batch :

Description : Assemblage de vins préparé et stabilisé selon les techniques et procédés usuels en oenologie - présenté en ampoules de 10 mL. *Blend of wines prepared and stabilized in accordance with the techniques and the processes used in oenology - glass ampoules - nominal capacity 10 mL.*

Matrice : Vin Wine
Matrix :

Utilisation prévue : ✓ Pour étalonner ou ajuster les instruments de mesures. *To calibrate equipment.*
Intended use : ✓ Pour réaliser le contrôle qualité interne des mesures. *To carry out quality control.*
✓ Pour estimer les incertitudes. *To assess uncertainties.*
✓ Pour valider les méthodes d'analyses. *To validate the methods of analysis.*

Date d'expiration : **DECEMBRE 2021 / DECEMBER 2021**
Expiry Date :

Informations de stockage : Avant ouverture, le matériau de référence doit être stocké à l'abri de la lumière entre 5 °C et 25 °C. *Before opening, the reference material must be stored away from light between 5 °C and 25 °C.*
Storage information :

Instructions de manipulation et d'utilisation : Pour la manipulation du matériau, les mesures de sécurité habituelles en laboratoire d'oenologie sont requises. *For the handling, normal safety precautions in oenology laboratory are required.*
Instructions for handling and use : Le matériau de référence est utilisable tel quel immédiatement après ouverture. Cependant, il convient d'avoir pris soin d'homogénéiser le contenu de l'ampoule avant son ouverture. Les valeurs du présent certificat ne sont garanties qu'à l'ouverture de l'ampoule. *The reference material can be used as it is immediately after opening. It should be careful to shake well the contents before opening. The values of this certificate are guaranteed at the opening of the contents.*

Traçabilité métrologique et raccordement : Les valeurs de référence certifiées et leurs incertitudes sont basées uniquement sur l'exploitation de résultats d'analyses obtenus par des méthodes accréditées par le COFRAC dans le cadre de l'étude collaborative entre laboratoires et lors de l'évaluation de l'homogénéité et de la stabilité. Cette accréditation assure le respect de la traçabilité métrologique et le raccordement au SI des résultats et par conséquent des valeurs de référence et des incertitudes issues de leur exploitation. *The Certified reference values and the uncertainties are premised on results from the comparative study and the homogeneity and stability evaluation, obtained by methods that are accredited by COFRAC. This accreditation ensures the metrological traceability to SI units of the reference values and the uncertainties, from the calculations.*
Metrological traceability :

Méthodes d'analyses appliquées lors de l'étude collaborative de caractérisation : Les participants ont réalisé les analyses selon les méthodes de référence OIV⁽¹⁾ lorsqu'elles existent ou par défaut, une méthode interne validée reprenant le principe des méthodes OIV⁽¹⁾. *Participants performed analyzes using the OIV⁽¹⁾ reference methods when available or failing that, an internal method validated using the principle of the OIV⁽¹⁾ reference methods.*
Methods of analysis for comparative characterization study :

(1) OIV : Organisation Internationale de la Vigne et du Vin - International Organisation of Vine and Wine

La reproduction de ce certificat d'analyses n'est autorisée que sous sa forme intégrale, il comprend deux pages.
Reproduction of the certificate is permitted only in its integral form, it includes two pages.

Chambre d'Agriculture de la Gironde - Service Vigne et Vin
39 rue Michel Montaigne - CS 30115 - 33295 BLANQUEFORT CEDEX
Tél. +33(0)5 56 35 00 00 - Fax +33(0)5 56 35 58 59
titravin@chadg.com - www.titravin.com

DE/RT 01-2 rev06 -

Certificat d'analyses - date d'application : 13/10/2017

page 1/2

Valeurs de référence certifiées <i>Certified reference values</i>		
Paramètres <i>Parameters</i>	Valeur de référence <i>Reference value</i>	Incertitude (k=2) <i>Uncertainty (k=2)</i>
Titre alcoométrique volumique (% vol.) <i>Alcoholic strength by volume (% vol.)</i>	14,94	0,05
Glucose + fructose (g/L) <i>Glucose + fructose (g/L)</i>	2,10	0,06
pH / pH	3,41	0,02
Acidité totale / Total acidity ⇒ g H₂SO₄/L ⇒ g acide tartrique/L / g tartaric acid/L ⇒ meq/L	4,05 6,20 82,7	0,06 0,09 1,2
Acide L-malique (g/L) <i>L-malic acid (g/L)</i>	2,89	0,16

Volume minimal d'essai :
Minimum sample size :

La prise minimale d'essai est fixée à 3 µL. Le producteur ne garantit pas les valeurs de référence en cas d'utilisation d'un sous-échantillon plus petit. *The minimum sample size is 3 µL. The producer doesn't guarantee the reference values when using a smaller subsample.*

Agents de certification / Responsible for certification :

Edition du contenu du certificat v00 du 13/10/2017

Responsable TITRIVIN <i>Responsible of TITRIVIN production</i> Delphine GIRAUDON	
Responsable Qualité <i>Quality Manager</i> Sophie SALIMI	
Approbation et autorisation de publication <i>Approval and authorization of publication</i>	 Signature numérique de GIRAUDON Delphine DN : cn=GIRAUDON Delphine, o=Chambre d'Agriculture de la Gironde, ou=Service Vigne et Vin, email=d.giraudon@gironde.c hambagri.fr, c=FR Date : 2017.10.17 10:16:39 +02'00'

La reproduction de ce certificat d'analyses n'est autorisée que sous sa forme intégrale, il comprend deux pages.
Reproduction of the certificate is permitted only in its integral form, it includes two pages.



République Française

ANNEXE du Certificat d'analyses de matériau de référence pour laboratoires d'œnologie

Annex Reference material certificate of analysis for oenology laboratories

Code matériau : **TITRIVIN AA5**
Material code :
n° de lot : **A 03171222 5**
Batch :

Une valeur de référence est "indicative" lorsqu'elle ne remplit pas les critères requis pour une valeur de propriété certifiée.

The reference value is "indicative" when it does not meet the criteria for a certified property value.

Valeurs de référence indicatives <i>Indicative reference values</i>		
Paramètres <i>Parameters</i>	Valeur de référence <i>Reference value</i>	Incertitude (k=2) <i>Uncertainty (k=2)</i>
Acidité volatile / Volatile acidity ⇒ g H ₂ SO ₄ /L ⇒ g acide acétique/L / g acetic acid/L ⇒ meq/L	0,76 0,93 15,5	0,03 0,04 0,6
Acide acétique (g/L) <i>Acetic acid (g/L)</i>	0,92	0,05
Substances réductrices (g/L) <i>Reducing sugars (g/L)</i>	3,14	0,25

Anexo C – FTIR/Resultados no FTIR

C.1 – Procedimento FTIR

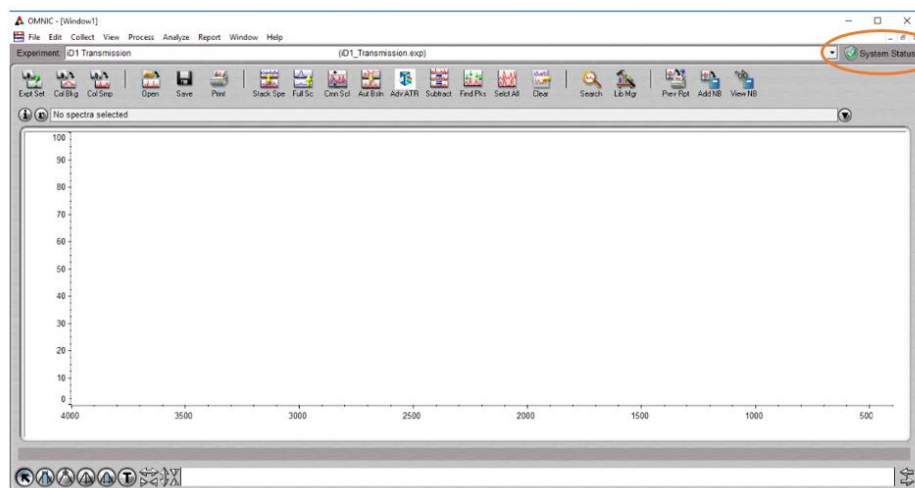
No presente anexo encontra-se descrita, detalhadamente, a utilização do FTIR.

Para a utilização do equipamento, na análise diária, procede-se de seguinte forma:

1. Ligar o equipamento no botão “On/Off”. Deixar estabilizar o equipamento. O módulo IV nunca deve ser desligado. Verificar o nível das soluções necessárias (background, lixívia, de lavagem).



2. Ligar o respetivo computador.
3. Abrir o programa “OMNIC” e verificar se o “System Status” está verde, caso contrário, o sistema não se encontra pronto para trabalhar.

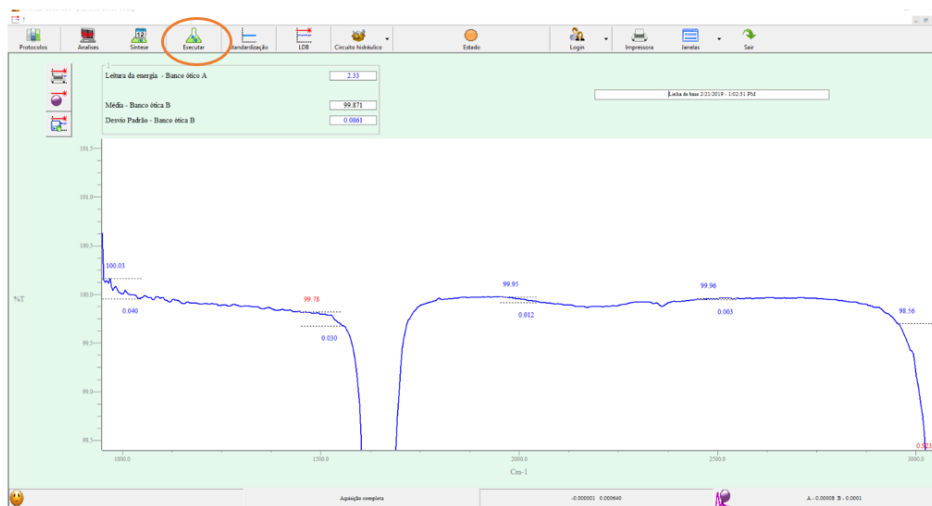


4. Abrir o programa “Bacchus 3 Analysis” e fazer o Login.

5. Traçar a linha de base.



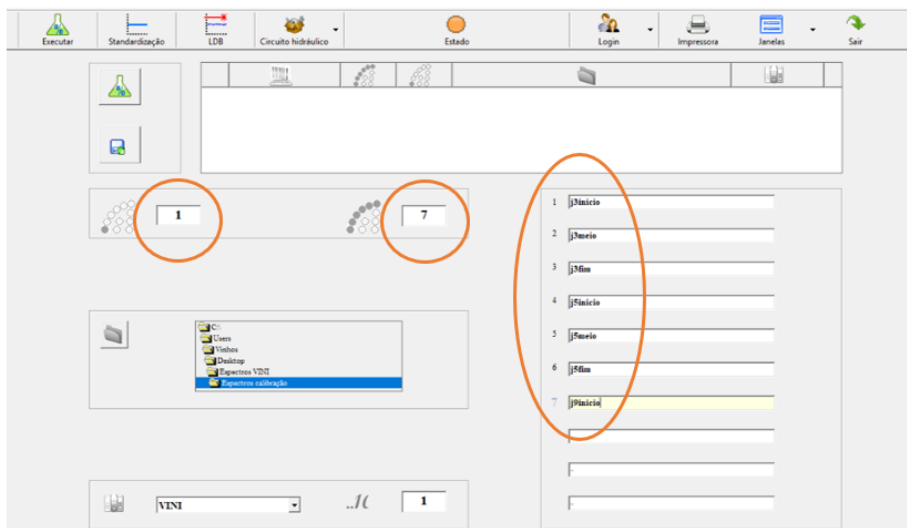
6. Quando a linha de base estiver definida, clicar em “Executar”.



7. Para proceder à análise de amostras - clicar no ícone de código de barras.

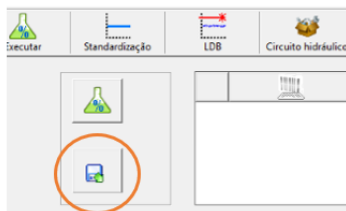


8. Introduzir o número de amostras e identificá-las, por exemplo, para 7 amostras:

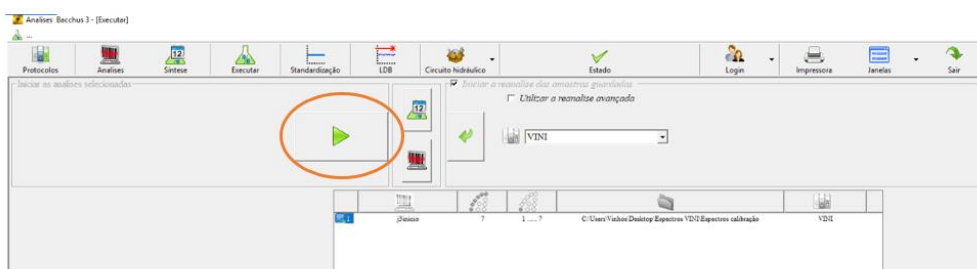


As amostras devem ser corretamente identificadas, para possibilitar a sua consulta posterior.

9. Guardar a lista.



10. O ícone “Start” deve aparecer com uma cor verde – começar a análise.



11. No fim da análise desligar o programa e o equipamento, exceto o módulo IV. Ao sair do programa, este vai sugerir fazer uma lavagem do circuito, fazer sempre a lavagem.

C.2 – Teor alcoólico – Comissão de Vinhos Verdes

Tabela C. 1. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de álcool %v/v).

Padrão	Referência (%v/v)	Valor FTIR (%v/v)
2	7,07	7,11
3	8,73	8,75
4	9,79	9,82
5	13,82	13,76
10	13,59	13,70
11	10,65	10,65
12	11,71	11,62
17	10,60	10,52
19	12,53	12,40
21	10,06	10,10
22	13,45	13,58
23	10,06	10,07
24	11,06	11,07
25	9,76	9,74

C.3 – Teor alcoólico – Final

Tabela C. 2. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, e soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de álcool %(v/v).

Padrão	Referência (%V/V)	Valor FTIR (%V/V)
3	8,73	8,74
4	9,79	9,81
5	13,82	13,72
10	13,59	13,66
11	10,65	10,63
12	11,71	11,59
17	10,60	10,49
19	12,53	12,37
21	10,06	10,08
22	13,45	13,55
23	10,06	10,05
24	11,06	11,05
25	9,76	9,73
AA1	9,46	9,44
AA2	10,87	10,78
AA3	12,40	12,44
AA4	13,69	13,75
AA5	14,94	15,06

C.4 – Massa volúmica

Tabela C. 3. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de massa volúmica (g/cm³).

Padrão	Referência (g/cm ³)	Valor FTIR (g/cm ³)
5	0,99092	0,99134
8	0,99321	0,99350
9	0,99033	0,99007
10	0,98857	0,98877
13	0,99660	0,99673
14	0,99168	0,99170
15	0,98889	0,98879
16	0,99034	0,99045
17	0,99340	0,99341
19	0,99372	0,99292
23	0,99496	0,99495

C.5 – Acidez volátil acética – Comissão de Vinhos Verdes

Tabela C. 4. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de acidez volátil (g/dm^3).

Padrão	Referência (g/dm^3)	Valor FTIR (g/dm^3)
10	0,41	0,47
11	0,35	0,37
12	0,33	0,35
13	0,18	0,32
17	0,24	0,31
18	0,33	0,34
20	0,51	0,48

C.6 – Acidez volátil acética – Final

Tabela C. 5. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, e soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de acidez volátil (g/dm^3).

Padrão	Referência (g/dm^3)	Valor FTIR (g/dm^3)
8	0,34	0,37
9	0,28	0,25
10	0,41	0,41
11	0,35	0,35
12	0,33	0,29
15	0,26	0,27
20	0,51	0,54
25	0,73	0,70
AA3	0,54	0,58
AA4	0,73	0,76
AA5	0,93	0,89

C.7 – Acidez total tartárica – Comissão de Vinhos Verdes

Tabela C. 6. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de acidez total (g/dm³).

Padrão	Referência (g/dm ³)	Valor FTIR (g/dm ³)
6	8,61	8,51
7	6,94	7,00
11	9,45	9,46
12	6,68	6,66
14	6,56	6,61
19	7,48	7,36
20	6,41	6,34
26	4,78	4,68
27	3,91	3,92
29	7,78	7,88
31	8,16	8,29

C.8 – Acidez total tartárica – Final

Tabela C. 7. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, e soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de acidez total (g/dm³).

Padrão	Referência (g/dm ³)	Valor FTIR (g/dm ³)
6	8,61	8,69
7	6,94	6,90
11	9,45	9,35
12	6,68	6,68
14	6,56	6,60
16	5,50	5,73
20	6,41	6,50
26	4,78	4,66
27	3,91	3,96
29	7,78	7,74
31	8,16	8,18
AA2	4,70	4,66
AA3	5,28	5,19
AA5	6,20	6,10

C.9 – Teor de açúcares totais – Comissão de Vinhos Verdes

Tabela C. 8. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, para o parâmetro de açúcares totais (g/dm³).

Padrão	Referência (g/dm ³)	Valor FTIR (g/dm ³)
6	4,10	4,62
8	8,80	8,98
17	5,20	4,76
21	8,60	8,46
23	8,40	8,53
24	7,00	6,99
25	5,40	5,25
28	12,10	11,46
32	4,60	4,49
33	9,10	9,8
34	2,70	2,65

C.10 – Teor de açúcares totais - Final

Tabela C. 9. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão da Comissão de Vinhos Verdes, e soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de açúcares totais (g/dm³).

Padrão	Referência (g/dm ³)	Valor FTIR (g/dm ³)
8	8,80	8,84
17	5,20	4,98
21	8,60	8,36
23	8,40	8,43
24	7,00	7,02
25	5,40	5,43
28	12,10	11,09
30	9,10	9,93
32	4,60	4,74
33	9,10	9,59
34	2,70	3,06
AA1	0,87	0,76
AA2	3,91	3,76
AA3	6,01	6,03
AA4	8,01	7,95
AA5	2,10	1,91

C.11 – Teor de açúcares redutores

Tabela C. 10. Concentração de referência e experimental das soluções-padrão TITRIVIN para o parâmetro de açúcares redutores (g/dm³).

Padrão	Referência (g/dm ³)	Valor FTIR (g/dm ³)
AA1	0,87	0,92
AA2	3,91	3,86
AA3	6,01	6,09
AA4	8,01	7,98
AA5	2,10	2,05

Anexo D - Vários

D.1 – Conversão de Resultados

O densímetro digital, unidade de *Anton Paar*, fornece os resultados em densidade absoluta. Estes foram transformados em densidade relativa através de tabelas de conversão dos resultados, consultadas no *J. M. Coulson, J. F. Richardson, Tecnologia Química* e pela equação D.1:

$$D_{rel} (g/cm^3) = \left[\frac{D_{abs} - 1}{1,001205} + 1 \right] * 0,99820123 \quad \text{Equação D.1}$$

Onde D_{rel} representa a densidade relativa, ou a massa volúmica a 20°C, e a D_{abs} representa a densidade absoluta a 20°C.

Para calcular a percentagem de álcool em volume, torna-se necessária realizar um cálculo intermédio – percentagem em massa. A equação D.2 exemplifica o cálculo da percentagem mássica do álcool na amostra e a equação D.3 a percentagem em volume.

$$\% (m/m) = 517,4 * (1 - D_{abs}) + 5084 * (1 - D_{abs})^2 + 33503(1 - D_{abs})^3 \quad \text{Equação D.2}$$

$$\% (v/v) = \frac{D_{rel} * \% (m/m)}{0,78934} \quad \text{Equação D.3}$$

A equação D.2 foi consultada no manual técnico do *Anton Paar*. O valor de 0,78934, da equação D.3 representa a massa volúmica do etanol a 20°C.

D.2 – Erro relativo

A equação D.4 exemplifica o cálculo do erro relativo, para a amostra de vinho tinto, entre os resultados do FTIR e do *Anton Paar*.

$$\% \text{ Erro relativo} = \frac{[FTIR] - [Paar]}{[Paar]} * 100 \leftrightarrow \quad \text{Equação D.4}$$

$$\% \text{ Erro relativo} = \frac{13,33 - 12,42}{12,42} * 100 \leftrightarrow$$

Equação D.4

$$\% \text{ Erro relativo} = 7,33 \%$$

D.3 – Acidez Total

O cálculo da acidez total é efetuado através da equação 3.1 e a equação D.5 exemplifica-o para a amostra de vinho branco de cisterna.

$$\text{Acidez Total Tartárica} = 0,75 * V (\text{NaOH}) \leftrightarrow$$

$$\text{Acidez Total Tartárica} = 0,75 * 8,17 \leftrightarrow$$

Equação D.5

$$\text{Acidez Total Tartárica} = 6,13 \text{ (g/L)}$$

D.4 – Métodos Clássicos - Procedimento

➤ Determinação da acidez volátil pelo aparelho Cazenave

A acidez volátil é constituída pelos ácidos que pertencem à série acética e que se encontram no vinho quer no estado livre quer sob a forma de sais. Pode ser determinada através da titulação dos ácidos voláteis, separados do vinho por arrastamento com vapor de água e retificação de vapores.

Reagentes/Meios de Cultura:

- Hidróxido de sódio (NaOH), N/10;
- Solução de fenolftaleína.

Equipamento

- Aparelho Cazenave e acessórios;
- Balão Erlenmeyer de 500 mL e de 250 mL;
- Bureta;
- Pipeta de 10 mL;
- Vareta de vidro.

Amostragem/Preparação das Amostras

- 10 mL de vinho.

Técnica

1. Colocar 200 mL de água destilada no balão Erlenmeyer do acidímetro Cazenave.
2. Com uma pipeta, medir rigorosamente 10 mL de vinho a analisar para o tubo chapinador.
3. Ligar este tubo ao condensador e colocar o balão recetor por baixo deste.
4. Ligar a água de refrigeração, assim como o aparelho no interruptor elétrico – ON/Posição I.
5. Logo que a água entre em ebulição durante 2 a 3 minutos, tapar o orifício da purga existente na rolha de borracha, que segura o tubo destilatório, e deixar que o vapor de água que faz borbulhar o vinho arraste no destilado todos os ácidos voláteis.
6. Obtidos 100 mL de destilado, destapar o orifício referido no ponto anterior, desligar o aparelho e fechar a água de refrigeração.
7. Adicionar ao destilado 3 gotas de fenolftaleína procedendo, de seguida, à sua titulação com NaOH N/10 até ao aparecimento de uma leve, mas persistente coloração rósea.
8. Registrar o volume de soda gasto.

Nota

Se na titulação forem gastos mais de 1,3 mL de soda N/10, torna-se necessário repetir o ensaio para confirmação dos resultados.

➤ **Determinação do teor de açúcares redutores pelo método de Rebelein**

Os açúcares redutores são constituídos pelo conjunto de açúcares de função cetónica ou aldeídica doseados pela sua ação redutora sobre a solução cupro-alcalina. O óxido de cobre precipitado por um excesso de solução cúprica adicionada ao vinho defecado é pesado sob a forma de óxido cúprico.

Reagentes

- Ácido sulfúrico a 16%;
- Solução de amido;
- Solução de iodeto de potássio;
- Solução de sal de Seignette;
- Solução de sulfato de cobre;
- Solução de tiosulfato de sódio.

Equipamento

- Pipetas de 10 mL, 5 mL, 2 mL;
- Erlenmeyer;
- Placa de aquecimento;
- Bureta.

Amostragem/Preparação das Amostras

- 2 ml de vinho.

Técnica

A. Ensaio em Branco

Proceder de igual modo ao ensaio normal, alterando unicamente a amostra a analisar, que para este caso será água destilada. O ensaio em branco deverá ser sempre efetuado antes de cada série de determinações de açúcares redutores ou quando se substitui um reagente.

B. Procedimento

1. Ligar a placa elétrica 5 minutos antes da 1ª determinação.
2. Para um balão Erlenmeyer medir:
 - 10 ml solução de sulfato de cobre;
 - 5 ml de solução de sal de Seignette;
 - 2 grânulos de pedra-pomes;
 - 2 ml de amostra de vinho a analisar.

3. Colocar o balão Erlenmeyer na placa de aquecimento e deixar ferver durante 1 minuto e meio.
4. Retirar imediatamente o balão após terminar o tempo e deixar arrefecer durante $\pm$ 5 minutos.
5. De seguida, adicionar, pela ordem indicada e com ligeira agitação:
 - 10 ml da solução de iodeto de potássio;
 - 10 ml de ácido sulfúrico a 16%;
 - 10 ml da solução de amido.
6. Titular com a solução de tiossulfato de sódio até à viragem para o amarelo-creme e registar esse volume gasto (n2).

Expressão dos Resultados

Ao volume de tiossulfato de sódio gasto na titulação do “ensaio em Branco” (n1), subtrair o volume de tiossulfato de sódio gasto na titulação do ensaio do vinho em análise (n2). Os resultados apresentam-se em gramas de açúcar invertido por litro, arredondados às décimas.

D.5 – Limite de repetibilidade

Tabela D. 1. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de álcool, nas amostras de vinho branco.

r	0,0684
Sri	0,0244

Tabela D. 2. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de massa volúmica, nas amostras de vinho branco.

r	0,00014
Sri	0,00005

Tabela D. 3. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de acidez total, nas amostras de vinho branco.

r	0,1755
Sri	0,0627

Tabela D. 4. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de açúcares totais, nas amostras de vinho branco.

r	0,3722
Sri	0,1329

Tabela D. 5. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de álcool, nas amostras de vinho tinto.

r	0,0978
Sri	0,0349

Tabela D. 6. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de massa volúmica, nas amostras de vinho tinto.

r	0,00017
Sri	0,00006

Tabela D. 7. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de acidez total, nas amostras de vinho tinto.

r	0,1446
Sri	0,0516

Tabela D. 8. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de acidez volátil, nas amostras de vinho tinto.

r	0,0834
Sri	0,0298

Tabela D. 9. Limite de repetibilidade e o desvio-padrão de repetibilidade para o parâmetro de açúcares redutores, nas amostras de vinho tinto.

r	0,4452
Sri	0,1590