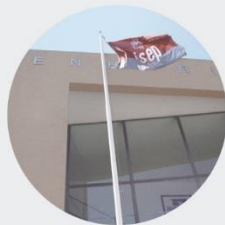




# Caracterização físico-química dos cristais precipitados no Vinho do Porto Tawny Velho

**ANA MARIA RAMOS E SILVA**

setembro de 2019



# Caracterização físico-química dos cristais precipitados no Vinho do Porto Tawny Velho

**ANA MARIA RAMOS E SILVA**

Julho de 2019

**Orientação pelo ISEP:** Doutora Teresa Oliva Teles  
**Orientação pela empresa:** Doutor Frank Steven Rogerson



## Agradecimentos

Ao Engenheiro João Pedro Ramalho, agradeço-lhe a oportunidade de realizar a minha dissertação na Symington Family Estates, Vinhos, S.A.

Ao Doutor Frank Steven Rogerson, agradeço-lhe por toda a orientação, disponibilidade, compreensão e por todos os conhecimentos que me transmitiu ao longo deste tempo.

À Doutora Teresa Oliva Teles, minha orientadora, agradeço a sua disponibilidade, paciência, por todas as sugestões de melhoria e por todo o acompanhamento prestado durante este período de tempo.

A todos os funcionários da Symington Family Estates, Vinhos, S.A., que colaboraram para a realização deste trabalho, contribuindo para o meu sucesso.

À minha família, especialmente aos meus pais e irmão, por todo o apoio e incentivo dado ao longo do meu percurso académico, pois sem o apoio e carinho deles não estaria aqui.

Por último, uma palavra de enorme gratidão aos meus amigos verdadeiros que nunca me deixaram desistir e que sempre me apoiaram durante estes anos do meu percurso académico. Obrigada pela vossa presença quer nos bons como nos maus momentos.

A todos, o meu sincero obrigado.



## Resumo

A precipitação tartárica é um fenómeno natural e imprevisível, sendo vista pelo consumidor como um defeito. Por isso, no processo de produção dos vinhos, é sempre controlada a estabilização tartárica antes do engarrafamento. Os objetivos deste trabalho, desenvolvido na Symington Family Estates, Vinhos, S.A., foram: (1) estudar a relação da quantidade de precipitado obtido num Vinho do Porto com o teor de metais; (2) estudar o efeito de um estabilizante (goma arábica). No projeto as amostras foram armazenadas em ambiente frio (-4 °C), para forçar a precipitação num período de seis meses, e outras à temperatura ambiente (controlo). Em todas as amostras (vinho e respetivos cristais) foi feita uma caracterização físico-química e a quantificação dos metais (Mg, Na, K, Ca), bem como, a análise de estabilidade tartárica aos vinhos, através de duas metodologias, o teste do frio e o teste do mini-contacto. Os metais foram analisados utilizando o método de referência de espectrofotometria de absorção atómica com atomização por chama. Foi ainda estudado a aplicabilidade dum método colorimétrico para a avaliação do teor de Ferro nos vinhos do Porto, tendo sido, validada a linearidade, a resposta rápida e precisa.

A instabilidade tartárica foi determinada através do teste do frio (presença de cristais nos níveis C1, C2 e C3) e pelo teste de mini-contacto (zona de risco e instabilidade tartárica) em todas as amostras com a adição de potássio e cálcio.

Relativamente aos resultados das análises dos metais nos cristais, conclui-se que o teor de Magnésio e Sódio não eram significativo, no entanto, verificou-se um aumento de cálcio e potássio diretamente proporcional à quantidade adicionada aos vinhos. Com os ensaios realizados, confirmou-se que a diminuição da temperatura acelera o processo de precipitação, no entanto, a introdução da goma arábica diminuiu o aparecimento de cristais nas amostras, no entanto, não inibiu.

Em suma, conclui-se que ao longo tempo, é expectável o aparecimento de cristais precipitados nos dois Vinhos do Porto Tawny em estudo, devido ao elevado nível de tartarato livre em solução que precipita lentamente e mediante a concentração de cálcio e potássio em excesso (> Kps).

**Palavras – chave:** Estabilidade tartárica, potássio, cálcio, Vinho do Porto.



## Abstract

Tartaric precipitation is a natural and unpredictable phenomenon, being seen by the consumer as a defect. Therefore, in the process of wine production, tartaric stabilization is always controlled before bottling. The objectives of this work developed in Symington Family Estates, Vinhos, S.A., were to: (1) study the relationship between the amount of precipitated crystals obtained in Port wine with the metal ion content; (2) to study the effect of a stabilizer (Arabic gum) on tartrate stability. In the project, two-thirds of the samples were stored in a cold environment (-4 °C), to force the precipitation over an extended period of six months, whilst the other third, the control was stored at room temperature. In all the samples (wine and respective crystals) a physical-chemical characterization and quantification of the metal content (Mg, Na, K e Ca) was made. Wine tartaric stability was also evaluated using two methodologies, the cold test and the mini-contact test. Metal content was analyzed using flame atomization atomic absorption spectrophotometry. The applicability of a colorimetric method to evaluate the iron content in Port wine was also studied, validating its accuracy and rapid throughput.

Tartaric instability was confirmed using both the cold test (crystals present at levels C1, C2 or C3), and mini contact test (high risk or Instability predicted) in all samples with added potassium and calcium.

The analysis of the metal content of the crystals revealed that both magnesium and sodium made insignificant contributions, whereas levels of both calcium and potassium increased proportionately to the amount added to the wines. It was confirmed that lower storage temperatures accelerate the precipitation process, whereas the introduction of Arabic gum to the wine, slowed down but did not totally inhibit the appearance of crystals in the samples.

In summary, it is expected that there will be considerable crystal precipitation in these Tawny Port wines over time, due to the high levels of free tartrate in solution which precipitates slowly and in accordance with the high concentrations of both calcium and potassium ( $> K_{ps}$ ).

**Keywords:** tartaric stability, potassium, calcium, Port wine



## Índice

Agradecimentos.....	iii
Resumo .....	v
Abstract.....	vii
Índice de Figuras.....	xiii
Índice de Tabelas.....	xv
Nomenclatura.....	xvii
Capítulo 1- Introdução .....	1
1.1. Enquadramento .....	1
1.2. Objetivo .....	1
1.3. Apresentação da empresa .....	1
1.4. A importância do setor vinícola em Portugal .....	2
1.5. O Vinho do Porto.....	3
1.5.1. A produção do Vinho do Porto.....	3
1.5.2. O processo de envelhecimento do Vinho do Porto .....	7
Capítulo 2- Instabilidade do Vinho do Porto.....	9
2.1. Caracterização do vinho .....	9
2.1.1. Espectrómetro de Infravermelho com transformada de Fourier.....	10
2.2. Constituição ácida do vinho.....	10
2.2.1. Ácido tartárico e ácido málico .....	11
2.3. Composição mineral do vinho .....	12
2.3.1. Testes para quantificação dos iões metálicos .....	13
2.3.1.1. Espectrofotometria de absorção atómica .....	14
2.3.1.2. Método colorimétrico para a determinação de ferro.....	14
2.4. Instabilidade do vinho.....	15
2.4.1. Instabilidade tartárica .....	15

2.4.1.1. Hidrogenotartarato de potássio .....	16
2.4.1.2. Tartarato de cálcio .....	20
2.4.2. Instabilidade da matéria corante .....	21
2.4.3. Testes de estabilidade tartárica .....	22
2.4.3.1. Teste de mini-contacto .....	22
2.4.3.2. Observação ao microscópio .....	22
Capítulo 3- Parte experimental.....	25
3.1. Reagentes e soluções.....	25
3.2. Vinhos de testes .....	26
3.3. Preparação das amostras.....	26
3.4. Estabilidade tartárica .....	28
3.5. Análise dos parâmetros Físico-químicos por FTIR.....	30
3.6. Análise dos iões metálicos.....	31
3.6.1. Espectrofotometria de absorção atómica .....	31
3.6.2. Método colorimétrico.....	32
Capítulo 4- Resultados e discussão.....	35
4.1. Perfil da estabilidade dos vinhos .....	35
4.2. Caracterização dos vinhos .....	41
4.3. Iões metálicos.....	42
4.3.1. Magnésio .....	42
4.3.2. Sódio .....	44
4.3.3. Potássio.....	46
4.3.4. Cálcio.....	50
4.4. Observação ao microscópio.....	53
4.5. Método colorimétrico .....	54
Capítulo 5- Conclusões e sugestões para trabalho futuro .....	58

Capítulo 6- Bibliografia .....	60
Anexo A – Medições das condutividades no momento inicial .....	64
Anexo B – Medições das condutividades após 6 meses de estágio .....	65
Anexo C – Determinação do limite de deteção e de quantificação dos cristais analisados.....	66



## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1</b> - Categorias do Vinho do Porto conforme o processo de envelhecimento [2]. .....	7
<b>Figura 2.1</b> – Transporte dos catiões do solo para as células da raiz [9]. .....	12
<b>Figura 2.2</b> - Curva da solubilidade do hidrogenotartarato de potássio, em função do teor alcoólico para diferentes temperaturas [16]. .....	20
<b>Figura 2.3</b> – Precipitações tartáricas: A – Hidrogenotartarato de potássio, B – Tartarato de cálcio. ....	23
<b>Figura 3.1</b> - Check Stab Alfa 2012 da marca Delta Acque. ....	29
<b>Figura 3.2</b> - Auto-analisador WineScan FT 120 da FOSS. ....	30
<b>Figura 3.3</b> - Espectrofotómetro de absorção atómica da Thermo Scientific. ....	31
<b>Figura 3.4</b> - Espectrofotómetro PowerWave XS da BioTek. ....	32
<b>Figura 4.1</b> – Precipitados obtidos nas garrafas dos vinhos do Porto em estudo. ....	36
<b>Figura 4.2</b> - Queda da condutividade obtida no teste do mini-contacto em função das adições de cálcio ao fim de 6 meses de estágio, nos ensaios de 500 mL do vinho A. ....	38
<b>Figura 4.3</b> - Queda da condutividade obtida no teste do mini-contacto em função da adição de cálcio ao fim de 6 meses de estágio, nos ensaios de 500 mL do vinho B. ....	38
<b>Figura 4.4</b> - Queda da condutividade obtida no teste do mini-contacto em função da adição de potássio ao fim de 6 meses de estágio, nos ensaios de 500 mL do vinho A. ....	40
<b>Figura 4.5</b> - Queda da condutividade obtida no teste do mini-contacto em função da adição de potássio ao fim de 6 meses de estágio, nos ensaios de 500 mL do vinho B. ....	40
<b>Figura 4.6</b> - Curva de calibração para o Mg. ....	42
<b>Figura 4.7</b> - Curva de calibração para o Na. ....	45
<b>Figura 4.8</b> - Curva de calibração para o K. ....	47
<b>Figura 4.9</b> - Valores da quantidade total de K (vinho e cristais), obtido em função da quantidade esperada nos vinhos A e B. ....	49
<b>Figura 4.10</b> - Curva de calibração para o Ca. ....	50
<b>Figura 4.11</b> - Valores da quantidade total de Ca (vinho e cristais), obtido em função da quantidade esperada nos vinhos A e B. ....	52

<b>Figura 4.12</b> – Observações microscópicas de depósitos precipitados. A, B e D – hidrogenotartarato de potássio (B-5, B-10 e B-19) e C, E e F – tartarato de cálcio (B-15, B-23 e B-27).....	53
<b>Figura 4.13</b> - Curva de calibração para o Fe por EAA.....	54
<b>Figura 4.14</b> - Resultados obtidos da concentração de Fe em função de determinados padrões de Fe para os ensaios de linearidade. ....	56

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 2.1</b> - Estrutura química do ácido tartárico e do ácido málico e as respetivas constantes de acidez a 25 °C.....	11
<b>Tabela 2.2</b> - Formas salificadas do ácido tartárico.....	17
<b>Tabela 2.3</b> - Solubilidade do ácido tartárico, hidrogenotartarato de potássio e do tartarato de cálcio em água e em solução hidroalcoólica a 10% (v/v) a 20 °C. ....	17
<b>Tabela 3.1</b> - Preparação de soluções padrão para análise por espectrofotometria de absorção atómica. ....	26
<b>Tabela 3.2</b> - Descrição dos códigos utilizados para os vinhos em estudo, bem como as respetivas variantes, nos ensaios de 500 mL do vinho A e B.....	28
<b>Tabela 3.3</b> - Valores da variação da condutividade para classificação da zona de estabilidade dos vinhos [29]. ....	30
<b>Tabela 3.4</b> - Condições instrumentais para a determinação de cada elemento. ....	32
<b>Tabela 3.5</b> – Volume a adicionar de água destilada e de reagente A. ....	33
<b>Tabela 3.6</b> – Volume a adicionar de reagente B. ....	33
<b>Tabela 4.1</b> – Codificação das amostras.....	35
<b>Tabela 4.2</b> - Resultados visuais obtidos no teste do frio para todos as amostras, após os 6 meses de estágio.....	37
<b>Tabela 4.3</b> - Parâmetros físico-químicos dos vinhos do Porto estudados. ....	41
<b>Tabela 4.4</b> - Quantidade inicial dos elementos metálicos em estudo para os dois vinhos do Porto.....	42
<b>Tabela 4.5</b> - Parâmetros experimentais da curva de calibração do Mg.....	43
<b>Tabela 4.6</b> - Massa total obtida de Mg no vinho e nos cristais para as amostras A e B. ....	44
<b>Tabela 4.7</b> - Parâmetros experimentais da curva de calibração do Na. ....	45
<b>Tabela 4.8</b> - Massa total obtida de Na no vinho e nos cristais para as amostras A e B. ....	46
<b>Tabela 4.9</b> - Parâmetros experimentais da curva de calibração do K. ....	47
<b>Tabela 4.10</b> - Massa total obtida de K no vinho e nos cristais para as amostras A e B.....	48
<b>Tabela 4.11</b> - Parâmetros experimentais da curva de calibração do Ca.....	50

<b>Tabela 4.12</b> - Massa total obtida de Ca no vinho e nos cristais para as amostras A e B.....	51
<b>Tabela 4.13</b> - Parâmetros experimentais da curva de calibração do Fe por EAA.....	55
<b>Tabela 4.14</b> – Limite de linearidade e de deteção do método colorimétrico para determinação de Fe.....	55
<b>Tabela 4.15</b> - Resultados obtidos da concentração de Fe, para os ensaios de linearidade.....	55
<b>Tabela 4.16</b> – Resultados obtidos da concentração de Fe pelo Kit, pela EAA e pelo IVDP.....	56

## Nomenclatura

R – Coeficiente de correlação;

Ka – Constante de acidez;

DOC – Denominação de origem controlada;

EAA - Espectrofotometria de absorção atómica;

FTIR – Espectrofotómetro de infravermelho com transformada de Fourier;

IVDP – Instituto dos Vinhos do Douro e Porto;

LD – Limite de deteção;

LQ – Limite de quantificação;

a, b, c – Parâmetros da regressão linear ou quadrática;

Kps – Produto de solubilidade;

IV – Radiação infravermelha;

Vexp (EAA) – Valor experimental obtido pela Espectrofotometria de absorção atómica com atomização por chama;

Vexp (Kit) – Valor experimental obtido pelo método colorimétrico;

Vref (IVDP) – Valor de referência do Instituto dos Vinhos do Douro e Porto;

$\Delta$ cond – Variação da condutividade.



## Capítulo 1- Introdução

Ao longo deste capítulo pretende-se dar a conhecer a empresa onde foi realizado o estágio curricular, assim como, o tema e os objetivos propostos para este projeto.

### 1.1. Enquadramento

Esta dissertação enquadra-se no âmbito da unidade curricular de Dissertação/Estágio, incluída no 4º semestre do Mestrado em Engenharia Química – Ramo Qualidade, do Departamento de Engenharia Química, no Instituto Superior de Engenharia do Porto. Este projeto experimental foi desenvolvido na empresa Symington Family Estates, Vinhos, S.A.

### 1.2. Objetivo

A presente dissertação tem como principal tema, a caracterização físico-química dos cristais precipitados no Vinho do Porto Tawny Velho e apresenta como principais objetivos:

- Estudar a presença de metais (Mg, Na, Ca e K) nos depósitos precipitados em dois vinhos do Porto tintos;
- Avaliar a estabilidade tartárica de dois vinhos do Porto perante diferentes adições de cálcio e potássio;
- Avaliar o poder estabilizante da goma arábica (supergum) em vinhos do Porto tintos;
- Observação microscópica dos cristais precipitados;
- Estudo comparativo de um método colorimétrico com a espectrofotometria de absorção atómica.

### 1.3. Apresentação da empresa

A família Symington, com ascendência escocesa, inglesa e portuguesa, está presente no Douro há cinco gerações, desde 1882, mas, se seguirmos a linhagem da família através da bisavó da atual geração, a ligação dos Symington aos vinhos do Douro recua no tempo 14 gerações transportando-nos até meados do século XVII e aos próprios primórdios da história do Vinho do Porto. A família Symington possui 2071 hectares de terra no vale do Douro,

distribuídos por 27 propriedades vitivinícolas. Estas propriedades, conhecidas no Douro como quintas, totalizam cerca de 1000 hectares de vinha. É o maior conjunto de vinhas na região pertencentes a uma só família. Geração após geração, têm plantado e cuidado destas quintas, acumulando conhecimentos que foram utilizados na produção de alguns dos melhores vinhos do Porto e do Douro.

A Symington Family Estates é uma empresa de propriedade e gestão familiar. É uma das principais produtoras de vinhos do Porto de qualidade superior. Cinco dos membros da família, Johnny, Rupert, Dominic, Charles, Robert trabalham juntos, mantendo as vinhas e produzindo os vinhos do Porto das quatro casas histórias da família, nomeadamente a Graham's, Cockburn's, Dow's e Warre's. A família é também proprietária da Quinta do Vesúvio, uma das mais emblemáticas propriedades vitivinícolas de Portugal.

Desde há bastante tempo que a família Symington faz investigação na área da vitivinicultura do Douro, usando para isso vinhas experimentais na Quinta da Cavadinha, no vale do Pinhão, na Quinta do Bonfim, no próprio vale do Douro, e na sua "Coleção de Castas", na Quinta do Ataíde, Quinta do Bomfim e no vale da Vilariga.

No que diz respeito aos vinhos de denominação de origem controlada, DOC, produz os vinhos Chryseia, Post Scriptum e Prazo de Roriz com a família Prats de Bordéus, assim como outros vinhos do Douro apenas com a assinatura Symington, tanto na Quinta do Vesúvio, como na Quinta do Ataíde. Ainda produzem a gama de vinhos Altano [1].

#### 1.4. A importância do setor vinícola em Portugal

A indústria do vinho é atualmente um exemplo de globalização e abertura de fronteiras. Nas últimas quatro décadas, conjuntamente com a liberalização económica, surgiram no mercado mundial novos países produtores, com estratégias competitivas sólidas, acompanhando mudanças nos hábitos e comportamento dos consumidores.

A região demarcada do Douro é uma boa referência do modelo de Terroir. Uma palavra de origem francesa que representa um número complexo de fatores que influenciam a biologia da videira, determinando assim a qualidade final da uva e do vinho resultante. Falar de Terroir é falar de topografia, geologia, drenagem, clima, castas, intervenção humana, cultura, tradição, etc. Associado ao conceito Terroir está sempre presente a ideia de qualidade excepcional.

A região do Douro produz, essencialmente, dois tipos de vinhos com características e denominações de origem diferentes, o Vinho do Porto e o vinho do Douro, com história e posição totalmente distintas no mercado. No entanto, neste trabalho só será abordado o Vinho do Porto.

## 1.5. O Vinho do Porto

O Vinho do Porto é um vinho licoroso, produzido sob condições peculiares, oriundas de fatores naturais e humanos. Tradicionalmente, o processo de produção é baseado na interrupção da fermentação do mosto, pela adição de aguardente vínica, pela lotação de vinhos e pelo envelhecimento.

A visão tradicional, portuguesa e europeia, insiste nas virtudes do lote e nos benefícios evidentes da mistura de castas. Aproveitar o que cada casta nos pode oferecer de melhor, combinar as virtudes e minorar as imperfeições são as vantagens evidentes do lote.

O Vinho do Porto distingue-se dos vinhos comuns devido a possuir características muito próprias, nomeadamente [2]:

- Enorme variedade de aromas inigualáveis;
- Uma persistência muito elevada de sabor e de aroma;
- Um teor de álcool elevado, geralmente compreendido entre os 19 e os 22 %;
- Vasta gama de doçuras, podendo ser muito doce, doce, meio-seco, seco ou extra seco.
- Grande diversidade de cores.

### 1.5.1. A produção do Vinho do Porto

O processo de vinificação do Vinho do Porto inicia-se com a colheita das uvas e termina no engarrafamento. Na elaboração do Vinho do Porto tinto, a fermentação do mosto realiza-se na presença das partes sólidas da uva, proporcionando a criação de vinhos de grande complexidade. De seguida, far-se-á uma breve descrição das várias etapas.

## **Colheita**

A colheita é realizada em diferentes épocas de acordo com a variedade da uva, o estágio de maturação e as condições climatológicas. É de notar que, uvas colhidas antecipadamente, tendem a produzir vinhos mais ácidos e menos alcoólicos, por outro lado, uvas colhidas tardiamente podem produzir vinhos de menor acidez e com um teor de álcool mais elevado.

Para evitar uma possível oxidação da uva, a colheita geralmente é realizada em horários com temperaturas amenas, podendo ser feita manualmente ou mecanicamente. O processo mecânico é mais rápido e económico, no entanto, só uma pequena quantidade pode ser vindimada mecanicamente, devido à topografia montanhosa da região ser em socalcos.

A vinificação tem que ser realizada o mais rapidamente possível, de modo a aproveitar todo o frescor da fruta e a evitar uma fermentação indesejada [3].

## **Receção e pesagem**

Nesta etapa do processo efetua-se o registo de dados relativos ao peso, data, hora, fornecedor, região da colheita, tipo de uva e o grau de açúcares. É de salientar que deverá ser evitada a contaminação microbiana que poderá ocorrer se as uvas estiverem parcialmente esmagadas e a temperatura elevada, deste modo, é importante garantir a chegada das uvas à adega inteiras e a uma temperatura não muito elevada [4].

## **Desengace e esmagamento**

A etapa de desengace tem por finalidade separar o engaço dos bagos antes de entrar na cuba de fermentação, visto que estes interferem negativamente na composição química do mosto, devido ao baixo teor de açúcar e de acidez e elevado teor de potássio, além de favorecer o aparecimento de paladar amargo e sensação de adstringência no vinho.

O esmagamento provoca a rutura da película (da uva) e a extração do mosto, sem originar o esmagamento da grainha ou, eventualmente a laminagem da película. Esta operação visa a libertação do mosto, o qual é imediatamente posto em contacto com o ar e com as leveduras presentes na película, contribuindo para o início da fermentação alcoólica [3].

### **Sulfitagem do mosto**

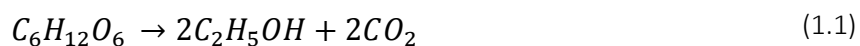
Após a etapa do desengace e do esmagamento, existe a necessidade de preparar o mosto para a fermentação, para tal, realiza-se a sulfitagem que consiste na adição de dióxido de enxofre, SO<sub>2</sub>, ao mosto. O acréscimo de SO<sub>2</sub> tem como principal objetivo inibir o desenvolvimento microbiano, atuando de forma preponderante sobre o perfil sensorial final do vinho. Para além disso, a ação antioxidante do SO<sub>2</sub> evita a oxidação do mosto.

Durante o processo de vinificação, o pH normalmente aumenta. Assim, em mostos com pH inicial mais alto, este parâmetro necessita de ser ajustado, sendo a adição de ácido tartárico uma prática bastante comum na indústria vinícola mundial. Elevadas concentrações de potássio em mostos podem levar a perdas excessivas de ácido tartárico devido à precipitação na forma de bitartarato de potássio e, como consequência, o ajuste do pH torna-se mais difícil e dispendioso [3].

### **Fermentação alcoólica**

Para a obtenção do Vinho do Porto tinto a fermentação alcoólica deve ocorrer na presença das películas, polpa e grainhas. A presença destas partículas sólidas permite conservar os taninos e os pigmentos das uvas criando vinhos de cor e aroma mais intenso.

A fermentação traduz-se na conversão, maioritária, do açúcar do mosto a etanol e dióxido de carbono, CO<sub>2</sub>, na presença de leveduras, como é exemplificado na equação 1.1 para a frutose, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>. Cerca de 90% do açúcar fermentado é transformado em etanol e dióxido de carbono e o restante principalmente em glicerol, o ácido succínico e o ácido acético.



Para um controlo eficaz da fermentação, é necessário monitorizar a densidade e a temperatura do mosto. Estas medições são essenciais visto que a conversão dos açúcares em álcool é refletida pela diminuição da densidade. É de esperar um aumento da temperatura, uma vez que a fermentação é uma reação exotérmica. A temperatura a que ocorre a fermentação irá influenciar as características sensoriais finais do vinho, pois é um fator decisivo para o desenvolvimento das leveduras e, conseqüentemente, para a cinética da reação. A

temperatura de fermentação depende do tipo de vinho a produzir, mas deve ser mantida entre 20 a 30 °C e nunca deve ultrapassar os 35 °C, porque a partir desta temperatura as leveduras cessam a atividade. A temperaturas mais elevadas há uma maior extração dos compostos fenólicos das uvas, originando vinhos mais incorporados e ricos em cor. Em contrapartida, a temperaturas mais baixas a fermentação é mais lenta resultando em vinhos mais frutados e mais perfumados [3,4].

### **Fortificação**

A fermentação alcoólica é interrompida pela fase de fortificação, através da adição de aguardente com um teor alcoólico de aproximadamente 77 % (v/v) pelo que o açúcar presente depois da fortificação (e também no produto final) é inteiramente natural da uva. O momento ideal para a adição da aguardente depende do estilo de vinho que se deseja, mas normalmente, a maior parte dos mostos são beneficiados quando metade do açúcar do mosto tenha sido metabolizado. Este aumento repentino do grau alcoólico do vinho não permite que as leveduras sobrevivam e assim deixa de ocorrer a degradação dos açúcares em álcool [5].

### **Prensagem**

A prensagem consiste no esmagamento dos bagos com o objetivo de maximizar a extração do sumo da uva. As prensas usadas neste processo são as prensas contínuas, que trabalham com pressões muito elevadas e que podem provocar dilaceramento das massas fermentadas, produzindo vinhos muito taninosos.

Nesta etapa da vinificação são obtidas três frações. A primeira, chamada de lágrima, resulta do escorrimento simples do mosto sem nenhuma pressão aplicada, a segunda fração resulta da aplicação de pressões entre os 0,4 bar e 0,8 bar e a terceira fração chegará até ao limite de pressão a que a prensa pode operar, normalmente entre os 1,4 e os 2,0 bar. A qualidade do mosto obtido na primeira e segunda fração é superior, sendo que a terceira fração já transporta muitos sólidos, resultantes da fragmentação das películas, originando um mosto de qualidade inferior que, por isso, deverá ser separado dos anteriores [3].

Após esta fase, o vinho necessita de ser analisado quimicamente, de forma, a fazerem-se os ajustes necessários a nível de pH, do teor alcoólico e do dióxido de enxofre.

Terminadas estas etapas, os resíduos sólidos e a matéria orgânica vão se depositando no fundo da cuba. Não é vantajoso que o vinho permaneça em contato com esses depósitos, para não transmitir sabores e aromas indesejáveis. Assim, é necessário realizar a trasfega, que consiste em passar o vinho para recipientes mais pequenos, de forma a evitar o contacto com as precipitações que ocorreram no final da fermentação [6].

### 1.5.2. O processo de envelhecimento do Vinho do Porto

O Vinho do Porto pode ser tinto, branco ou rosé. No que diz respeito ao Vinho do Porto tinto as diferentes categorias vão depender essencialmente do processo de envelhecimento. Os vinhos envelhecidos em madeira evoluem mais rapidamente devido ao contacto com o ar, do que os vinhos envelhecidos em garrafa, os quais passam um longo período, sem contacto com o ar e, por isso, evoluem mais lentamente. Os vinhos obtidos através do primeiro processo de envelhecimento referido são da categoria Tawny e os obtidos com o segundo processo de envelhecimento são designados de Ruby [5]. Na figura 1.1 estão representados os diferentes tipos de Vinho do Porto e o processo de envelhecimento a que cada um é sujeito.

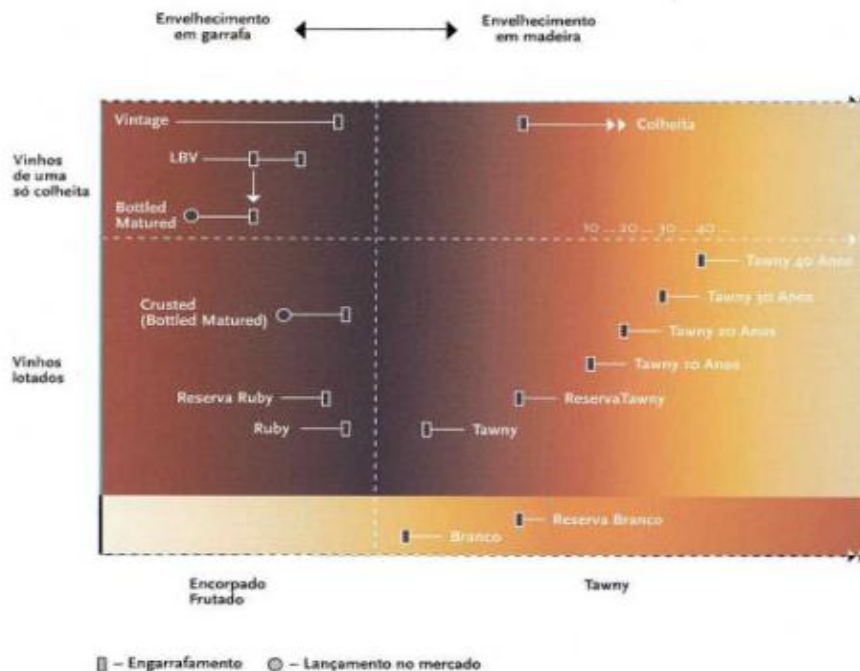


Figura 1.1 - Categorias do Vinho do Porto conforme o processo de envelhecimento [2].



## Capítulo 2- Instabilidade do Vinho do Porto

A origem dos diversos ácidos constituintes dos vinhos é bastante diversificada. São provenientes das uvas, da atividade de diversos microrganismos, nomeadamente, leveduras, bactérias acéticas e lácticas, de processos químicos naturais verificados durante a evolução dos mostos e dos vinhos e de diferentes processos tecnológicos, designadamente, do recurso à adição de corretivos ácidos.

Uma das mais importantes e determinantes características químicas dos mostos e dos vinhos está relacionada com a sua constituição ácida. Este parâmetro determina alguns dos principais fatores condicionantes dos equilíbrios físico-químicos que caracterizam os processos evolutivos do meio. Condiciona também a atividade dos microrganismos, durante os diversos processos tecnológicos da vinificação e evolução dos vinhos ao longo das diferentes fases subsequentes. Determina as características organolépticas e assegura a proteção dos mostos e dos vinhos.

### 2.1. Caracterização do vinho

O vinho é uma solução complexa onde todas as substâncias têm impacto nas suas características e qualidade. A análise completa dos seus parâmetros físicos e químicos é um processo essencial para a elaboração de um produto que cumpra os requisitos segundo a legislação existente e segundo as expectativas do produtor e dos consumidores.

Para a caracterização dos vinhos são realizadas análises periodicamente, através do equipamento FTIR, espectrofotómetro de infravermelho com transformada de Fourier. Estes foram projetados especialmente para a análise de mosto e vinho e com desempenhos notáveis em termos de velocidade de análise, precisão e veracidade, têm recebido recentemente muita atenção, por parte da indústria vitivinícola [7].

Neste projeto, os parâmetros quantificados com esta metodologia foram: o título alcoométrico volumétrico, os açúcares redutores, a acidez volátil, a acidez total, o pH e a massa volúmica.

### 2.1.1. Espectrómetro de Infravermelho com transformada de Fourier

A espectroscopia de IV baseia-se em alterações de energia vibracional das moléculas provocadas pela absorção de radiação de IV. Moléculas de compostos diferentes apresentam frequências de vibração específicas que correspondem a diferentes transições de níveis de energia vibracional. Assim, compostos diferentes apresentam espectros distintos permitindo a sua quantificação em solução [22]. O uso da transformada de Fourier nesta tecnologia, permite obter espectros de infravermelho mais rapidamente, uma vez que, não há a dispersão da luz infravermelha e todos os comprimentos de onda da radiação incidente são usados e direcionados para um interferómetro. Nesse interferómetro a radiação é semi-dividida para dois espelhos, um móvel e um fixo. Depois de refletidos, os dois feixes voltam a encontrar-se e são direcionados para a amostra. Desta forma, a interferência obtida é díspar para cada comprimento de onda da radiação e dependente da posição do espelho móvel. Assim sendo, obtém-se um interferograma, o qual permite obter o espectro do composto, através do uso da transformada de Fourier.

O vinho apresenta numerosos compostos, na forma molecular ou iónica, que são capazes de absorver energia a comprimentos de onda que estão na gama dos infravermelhos, pelo que, cada vinho apresenta um espectro específico. Através de uma análise multivariada é possível determinar certos componentes, uma vez que, a concentração de uma dada substância é diretamente proporcional à sua absorvância a um dado comprimento de onda [23]. O FTIR apresenta grandes vantagens, nomeadamente, utiliza quantidades mínimas de amostra, é uma técnica não destrutiva, não produz resíduos tóxicos e permite avaliações qualitativas e quantitativas. Além disso possibilita que vários parâmetros do vinho possam ser analisados simultaneamente num curto período de tempo [7].

## 2.2. Constituição ácida do vinho

Essencialmente, são os ácidos orgânicos designados por fixos, isto é não voláteis, que conferem aos vinhos as suas propriedades no paladar ácido. A sua natureza e as concentrações em que se encontram presentes desempenham um papel decisivo nos equilíbrios de ácido-base e, conseqüentemente, nas características organoléticas relacionadas com o aparecimento do “gosto ácido” [7].

### 2.2.1. Ácido tartárico e ácido málico

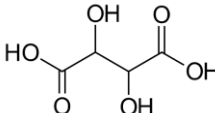
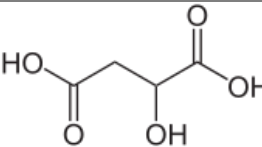
Os principais ácidos naturais presentes na uva e no vinho são o ácido tartárico e o ácido málico. Estes ácidos são sintetizados nas folhas e nas uvas. Apesar da sua semelhança química, têm vias metabólicas muito diferentes e a sua evolução não é igual durante o desenvolvimento e a maturação da uva.

O ácido L(+)-tartárico é o ácido maioritário das uvas e o mais importante nos vinhos. Considerando os teores em que se encontram presentes (1500 a 4000 mg/L) e as suas características organoléticas e químicas determinam decisivamente os valores da acidez e do pH. Durante a fermentação alcoólica, a sua concentração diminui, por precipitação dos seus sais de potássio e de cálcio. Essa diminuição continua após a fase de vinificação. Pelo que, o teor de ácido tartárico no vinho é inferior ao do mosto.

O ácido L(-)-málico existe nas uvas e nos vinhos com teores que podem atingir os 4000 mg/L, no entanto, diminui durante o processo de maturação da uva, uma vez que ocorre a degradação do ácido málico para obtenção de energia. Organoleticamente, apresenta um “gosto ácido puro e verde”. Tem uma força ácida um pouco mais fraca que o ácido tartárico, como está representado na tabela 2.1 [7].

A relação málico/tartárico varia consideravelmente de acordo com o tipo de uva e as condições de maturação. O teor de ácido tartárico das uvas varia muito pouco durante a maturação, enquanto o teor de ácido málico diminui ao longo da maturação [8].

**Tabela 2.1** - Estrutura química do ácido tartárico e do ácido málico e as respetivas constantes de acidez a 25 °C.

	Estrutura Química	Constantes de acidez
Ácido tartárico		$K_{a1} = 9,20 \times 10^{-4}$ $K_{a2} = 4,31 \times 10^{-5}$
Ácido málico		$K_{a1} = 3,48 \times 10^{-4}$ $K_{a2} = 8,0 \times 10^{-6}$

### 2.3. Composição mineral do vinho

A composição mineral reflete a origem e o percurso de um vinho, contribuindo de forma fundamental para as suas características sensoriais, nomeadamente na cor, na limpidez, no gosto e no aroma. Os elementos minerais presentes no vinho provêm, em grande parte, da absorção radicular, ou seja, os iões minerais com concentrações mais elevadas no solo entram nas células da raiz. Este fenómeno ocorre com maior intensidade durante a formação e maturação do bago [7]. Uma elevada percentagem dos catiões são transportados pela seiva do xilema, como está exemplificado na figura 2.1 [8].

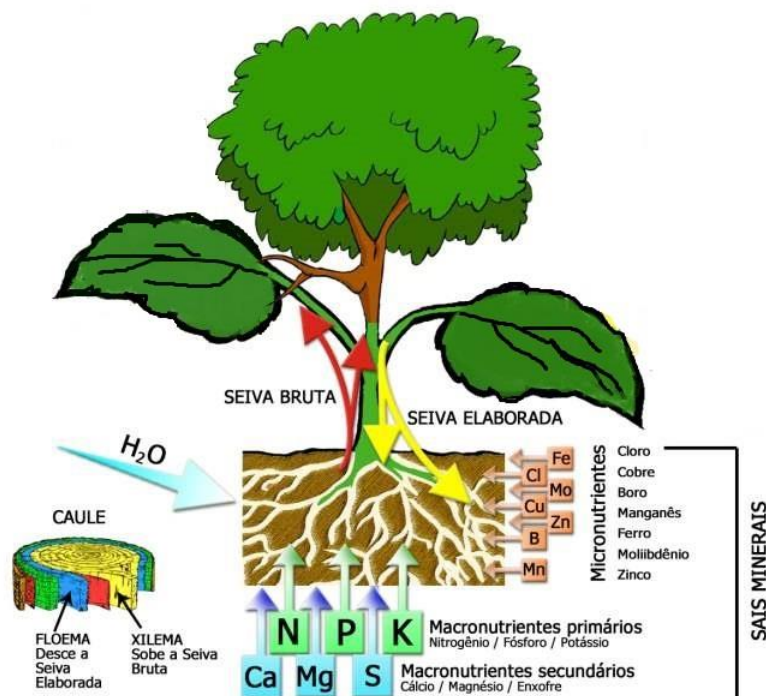


Figura 2.1 – Transporte dos catiões do solo para as células da raiz [9].

O potássio é o catião que se apresenta em maiores quantidades no mosto, representando cerca de 50 % da matéria mineral presente no vinho (entre 500 a 2000 mg/L), sendo também possível encontrar catiões de cálcio (entre 30 a 150 mg/L), de magnésio (entre 20 a 120 mg/L) e de sódio (cerca de 5 a 40 mg/L). Assim sendo, torna-se indispensável a monitorização destes catiões, devido ao facto de estarem relacionados com fenómenos de instabilidade físico-química dos vinhos [10,11].

Na videira, o potássio está presente essencialmente nos vacúolos das células, embora as células da película da uva também contenham quantidades significativas deste catião [12].

O catião cálcio presente no vinho está relacionado com a quantidade presente na polpa e na película da uva, mas também dependente das operações tecnológicas utilizadas e das condições de armazenamento [10]. O potássio e o cálcio encontram-se no mosto e no vinho sob a forma de sais orgânicos, tais como tartaratos, acetatos e complexos orgânicos com outras espécies químicas [13].

A presença de alguns metais no vinho, pode originar fenómenos negativos no que diz respeito à sua qualidade, por ocorrência de turvações, oxidações e precipitações. No entanto, alguns minerais, tais como o cobre e o ferro, apresentam funções indispensáveis, nomeadamente, o cobre é essencial para o funcionamento dos tecidos vegetais, sendo cofator de diversas enzimas. Os mostos podem apresentar valores de cobre compreendidos entre os 20 e 30 mg/L que precipitam em grande parte no decorrer da fermentação, originando vinhos com teores de cobre entre os 0,1 e 0,2 mg/L [7]. O ferro está presente no vinho em concentrações da ordem dos 2 a 20 mg/L, em parte de natureza endógena (2 a 5 mg/L) e o restante é adquirido através dos equipamentos e materiais utilizados na vindima e nos processos de vinificação, estabilização e conservação dos vinhos. Grande parte deste metal precipita em condições redutoras durante e após a fermentação. Quando apresenta teores entre 10 a 20 mg/L pode provocar turvações ou alterações da cor do vinho [7].

### 2.3.1. Testes para quantificação dos iões metálicos

Os componentes metálicos encontrados no vinho podem advir das uvas ou do equipamento usado durante a produção e podem afetar a qualidade do vinho, por exemplo, a formação de compostos de ferro insolúveis, afeta a cor e a limpidez dos vinhos.

A determinação de catiões metálicos nos vinhos pode ser realizada através de várias técnicas, sendo as mais habituais a espectrofotometria de absorção atómica (EAA) e os métodos colorimétricos.

### 2.3.1.1. Espectrofotometria de absorção atômica

Na EAA, a amostra é aspirada através de um tubo capilar, sendo nebulizada e misturada com um gás de combustão, o acetileno, e com um gás comburente, ar reconstituído. Posteriormente, será encaminhada até à chama.

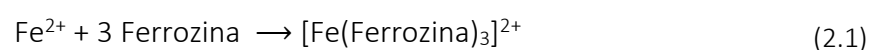
A lâmpada de cátodo oco existente no equipamento, é responsável por emitir um feixe de luz com energia capaz de excitar os eletrões de determinados átomos presentes na amostra. O feixe de luz é direcionado para a chama, onde é absorvida no monocromador. Quanto maior a concentração de átomos de um determinado metal em solução, maior será a absorção da energia do feixe de luz.

Esta técnica apresenta algumas interferências de matriz, que são eliminadas com a adição de modificadores de matriz. Além disto, o teor alcoólico influencia a viscosidade das amostras e conseqüentemente o transporte no atomizador, afetando a absorvância da solução, assim as amostras e padrões são preparados com o mesmo teor alcoólico, por exemplo, para a análise do ferro no vinho, há uma diluição da amostra com água desionizada e os padrões de calibração são preparados com uma solução hidroalcoólica a 10 % V/V [10].

### 2.3.1.2. Método colorimétrico para a determinação de ferro

Existem “Kits” colorimétricos comercializados que permitem a quantificação rápida e expedita dos metais no vinho. Neste projeto foi estudado a aplicabilidade desses “Kits” para a análise de Fe nos Vinhos do Porto e em soluções padrão.

Neste método o  $Fe^{2+}$  presente na amostra reage com o sal de sódio 3-(2-piridil)-5,6-bis(4-fenilsulfónico)-1,2,4-triazina, conhecida como ferrozina, em meio ácido (pH=4,1) e na presença de um agente redutor, como está representado na equação 2.1. O aumento da coloração é diretamente proporcional à concentração de ferro presente na amostra [11].



## 2.4. Instabilidade do vinho

O vinho devido à sua composição química complexa apresenta instabilidade físico-química, provocando no vinho armazenado ou no produto acabado, alterações de turbidez e formação de depósitos indesejáveis.

Neste subcapítulo, serão descritas algumas das instabilidades mais usuais (tartárica e matéria corante) e os respetivos fatores que afetam essas instabilidades.

### 2.4.1. Instabilidade tartárica

Durante os processos de vinificação, estágio e mesmo depois de engarrafados, ocorrem precipitações tartáricas, como referido atrás. Apesar de ser um acontecimento natural, quando estas precipitações ocorrem no produto engarrafado, são vistas como um fator negativo, gerando reclamações por parte do consumidor. Desta forma, devido à exigência dos consumidores foi fundamental encontrar métodos para apresentar o vinho límpido e sem precipitações.

O ácido tartárico,  $H_2T$ , é um ácido diprótico, ou seja, dissocia-se na presença de água, formando dois compostos, os aniões hidrogenotartarato,  $TH^-$ , e o tartarato,  $T^{2-}$  [13,15]. Os vinhos são naturalmente ácidos ( $3,2 \leq pH \leq 3,6$ ), o que faz com que em solução prevaleça o hidrogenotartarato. Desta forma, ocorre a formação de hidrogenotartarato de potássio em maior extensão, fazendo com que este seja o principal constituinte nos precipitados.

Tendo em conta que o ácido tartárico é um dos principais constituintes ácidos do vinho, os iões tartaratos ( $HT^-$  e  $T^{2-}$ ) e presentes em solução, formam sais com os iões de potássio e de cálcio. As formas salificadas do ácido tartárico dependem do pH do vinho e encontram-se representadas na tabela 2.2 [13,16].

Na tabela 2.3, está apresentada a solubilidade do ácido tartárico, do hidrogenotartarato de potássio e do tartarato de cálcio em água e em solução hidroalcoólica a 10 % (V/V) a 20 °C [15]. De todas as formas salificadas do ácido tartárico, torna-se imprescindível o estudo do hidrogenotartarato de potássio e do tartarato de cálcio, devido a serem pouco solúveis. O tartarato duplo de potássio e cálcio e o tartromalato de cálcio, possuem a propriedade de se manterem estáveis, a pH igual ou superior a 4,5. No entanto, para vinhos com valores de pH inferior a 4,5, a quantidade de tartarato desprotonado não permite atingir o produto de

solubilidade destes sais. O tartromalato de cálcio é relativamente insolúvel e cristaliza sob a forma de agulhas [13]. A gama de pH para qual é feito o acerto é de [3,9 – 4,2], é de salientar, que esta gama de pH não é fixa, varia de ano para ano.

#### 2.4.1.1. Hidrogenotartarato de potássio

O hidrogenotartarato de potássio, KHT, é um composto natural presente nas uvas e o mais abundante no vinho, como já foi referido anteriormente. Além disso, apresenta a capacidade de estar em solução hidroalcoólica de forma sobressaturada [13]. A cristalização do hidrogenotartarato de potássio no vinho é um acontecimento imprevisível, uma vez que está sujeito à influência de outros constituintes, que podem favorecer ou impedir o crescimento dos cristais.

Para que se inicie o processo de cristalização é necessário que exista uma solução sobressaturada do sal que vai formar o cristal, sendo esta lenta e espontânea. Em condições ideais, os cristais vão crescendo por atração electrostática dos iões ou moléculas, terminando quando se estabelece o equilíbrio entre a solução saturada e o cristal. No entanto, este sistema pode ser afetado pela presença de proteínas, de taninos e de pigmentos, que podem ser adsorvidos nos pontos livres existentes nos ângulos e arestas do núcleo de cristalização, impedindo assim a posterior formação de cristais.

Durante e após a fermentação, ocorre um aumento da concentração de etanol, o que implica um aumento da insolubilidade do hidrogenotartarato de potássio, ver figura 2.2, o que leva a um aumento da precipitação do mesmo durante esta fase.

Outro fator que interfere no equilíbrio de dissociação do ácido tartárico, é o pH do vinho. Do pH 3,4 a 4,0 a quantidade de iões  $HT^-$  é máxima, favorecendo a formação de KHT [18].

Tabela 2.2 - Formas salificadas do ácido tartárico.

Hidrogenotartarato de potássio ou bitartarato de potássio	
Tartarato de cálcio	
Tartarato duplo de potássio e cálcio	
Tartromalato de cálcio	

Tabela 2.3 - Solubilidade do ácido tartárico, hidrogenotartarato de potássio e do tartarato de cálcio em água e em solução hidroalcoólica a 10% (v/v) a 20 °C.

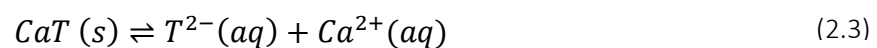
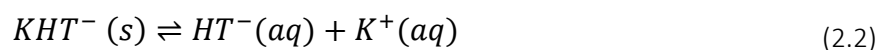
	Ácido tartárico	Hidrogenotartarato de potássio	Tartarato de cálcio
Solubilidade em água	4,9 g/L	5,7 g/L	0,53 g/L
Solubilidade em solução hidroalcoólica a 10 % V/V	-	2,9 g/L	-

Outro fator a considerar é a estrutura do hidrogenotartarato de potássio, uma vez que este composto possui dois grupos álcoois e dois ácidos carboxílicos, sendo que um está hidrolisado no vinho. Um ácido carboxílico em solução aquosa ou hidroalcoólica apresenta a possibilidade de estabelecer pontes de hidrogénio entre as moléculas, formando dímeros que persistem em solução. Estes dímeros em solução hidroalcoólica também são responsáveis pela sobressaturação. Um vinho sobressaturado é límpido e não se visualizam cristais ou depósito. No entanto, com uma diminuição da temperatura, poderá ocorrer a nucleação e haver a formação de cristais espontaneamente. É de salientar que, uma vez iniciada, a velocidade de nucleação aumenta e o tamanho do cristal aumenta, acabando por sedimentar no fundo da garrafa [12].

O processo de cristalização compreende assim um conjunto de fases, nomeadamente, a fase de sobressaturação, a fase de nucleação e a fase de crescimento [13].

### Fase de sobressaturação

Os iões  $HT^-$  e  $T^{2-}$ , estão envolvidos na formação dos cristais de hidrogenotartarato de potássio e tartarato de cálcio. As equações 2.2 e 2.3, apresentam os equilíbrios de solubilidade do hidrogenotartarato de potássio e do tartarato neutro de cálcio, respetivamente.



O produto de solubilidade ( $Kps$ ) encontra-se apresentado nas equações 2.4 e 2.5. Então, para uma dada temperatura, se o produto de concentrações no vinho for superior ao  $Kps$ , o vinho encontra-se sobressaturado e ocorre a precipitação dos cristais [13].

$$Kps_{KHT} = [HT^-] \cdot [K^+] \quad (2.4)$$

$$Kps_{CaT} = [T^{2-}] \cdot [Ca^{2+}] \quad (2.5)$$

### **Fase de nucleação**

Para que ocorra a precipitação é necessário a formação de pequenos núcleos de cristalização, a partir dos quais ocorre o crescimento dos cristais.

Existem dois tipos de nucleação, a nucleação primária ou espontânea e a nucleação secundária ou induzida. A nucleação primária, é aquela em que os núcleos surgem de uma forma espontânea, para tal, é necessário uma concentração de iões no limite da sobresaturação e uma temperatura baixa. A nucleação secundária corresponde à formação de núcleos de cristalização, através da indução de pequenas partículas de dimensões muito pequenas no vinho [13].

### **Fase de crescimento**

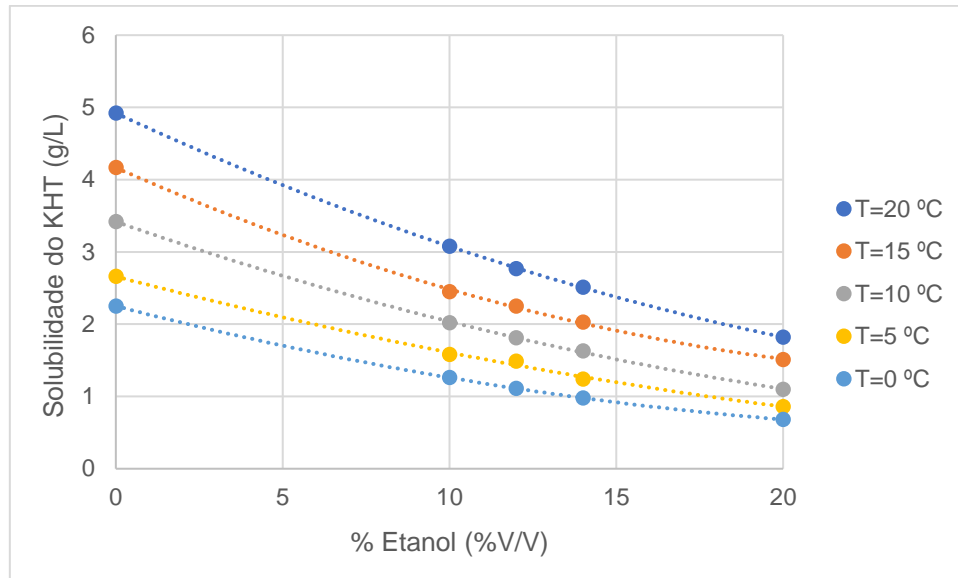
A fase de crescimento diz respeito ao desenvolvimento dos cristais, após a criação de núcleos estáveis, através da ligação dos iões metálicos e tartaratos aos pontos ativos das superfícies dos núcleos formados. A ligação destes iões não ocorre de uma forma estequiométrica, ou seja, pode ocorrer a ligação de um maior número de iões metálicos na superfície do cristal do que iões tartarato, originando uma partícula com carga positiva que tende a adsorver partículas com carga negativa [13].

### **Fatores que afetam a cristalização do KHT**

O processo de cristalização do hidrogenotartarato de potássio depende de muitos fatores, nomeadamente, da temperatura, do pH, da sobresaturação inicial em HTK, a granulometria dos cristais, a composição do vinho, a matéria coloidal, entre outros [18].

As temperaturas baixas favorecem a cristalização, tornando-a mais rápida. Como se evidencia na figura 2.2, a solubilidade do hidrogenotartarato de potássio é afetada pela temperatura baixa, tornando-se insolúvel [18].

A solubilidade do hidrogenotartarato de potássio diminui com o aumento do teor alcoólico, ver tabela 2.3. Os autores Berg e Keefer (1958) ao estudarem o efeito do álcool nas constantes de dissociação do ácido tartárico verificaram que a solubilidade do hidrogenotartarato de potássio é inversamente proporcional ao grau alcoólico, como está representado na figura 2.2 [17].



**Figura 2.2** - Curva da solubilidade do hidrogenotartarato de potássio, em função do teor alcoólico para diferentes temperaturas [17].

#### 2.4.1.2. Tartarato de cálcio

O tartarato de cálcio (CaT), é um sal insolúvel, cerca de dez vezes menos solúvel que o hidrogenotartarato de potássio. No entanto, não representa uma preocupação tão notável como o hidrogenotartarato de potássio, visto que a sua cristalização não é tão comum.

É de notar que, o risco associado à precipitação deste sal é mais evidente em vinhos oriundos de uvas cultivadas em solos ricos em cálcio [13].

O processo de cristalização do CaT é muito similar ao do KHT, apesar de menos frequente, a sua cristalização é mais lenta do que a do KHT. A prevenção do aparecimento destes cristais nos vinhos engarrafados é mais difícil de efetuar, visto que, a velocidade de reação não é muito afetada pelas temperaturas baixas, como tal, não se podem utilizar as tecnologias de estabilização pelo frio.

A origem do cálcio no vinho não advém apenas do solo, poderá derivar de algumas operações tecnológicas. Esta técnica podem aumentar a concentração de cálcio e conseqüentemente o teor de CaT no vinho. Também, é de salientar que o armazenamento em depósitos de cimento mal revestidos ou a filtração podem contribuir para o aumento da concentração de cálcio no vinho [13].

### Fatores que afetam a cristalização do CaT

Da mesma maneira que o KHT, também o CaT apresenta fatores que têm influência na solubilidade deste composto. O aumento do teor alcoólico tem uma ação benéfica sob a nucleação e a velocidade de crescimento dos cristais. Desta forma, a solubilidade do CaT diminui, com o aumento da concentração em etanol [18].

Ao contrário do KHT, a solubilidade do CaT é menos dependente da temperatura, pelo que não é possível estabilizar um vinho recorrendo à diminuição da mesma. Por este motivo, é que o arrefecimento do vinho até uma temperatura próxima da temperatura de congelação não promove a precipitação dos sais.

Relativamente ao pH, a solubilidade do CaT diminui com o aumento do mesmo. Para valores de pH superiores a 3,0, a concentração de iões tartarato vai aumentando, favorecendo desta forma, a precipitação deste sal para valores de pH próximos dos 6,0 [18].

#### 2.4.2. Instabilidade da matéria corante

Uma das características mais importantes na qualidade do vinho é a sua cor. No decorrer da maturação e do envelhecimento, o vinho tinto passa de vermelho vivo para um tom mais acastanhado/alaranjado, este facto está relacionado com a diminuição da quantidade de antocianinas e um aumento de pigmentos polimerizados [19,20].

Nos vinhos velhos, durante a sua conservação, ocorrem reações de polimerização entre os taninos e as antocianinas. Com o decorrer do tempo, estas estruturas complexas de dimensão coloidal, acabam por precipitar e depositam-se no fundo da garrafa [20,21].

Para a estabilização da cor, normalmente, adiciona-se goma arábica aos vinhos. É uma substância de origem natural e são obtidas fundamentalmente a partir de duas espécies de árvores: a Acácia Seyal e a Acácia Verek. A goma arábica é utilizada em enologia como colóide protetor, permitindo melhorar a estabilidade coloidal dos vinhos. Para além disso, ainda permite melhorar a estabilidade tartárica e metálica [22].

### 2.4.3. Testes de estabilidade tartárica

As precipitações tartáricas são um fenómeno natural da evolução dos vinhos e podem ocorrer durante a vinificação, a maturação ou após engarrafamento. Os cristais de tartarato, apesar de não representarem um problema para a saúde, se aparecerem, após o engarrafamento, prejudicam a apresentação do vinho no mercado e conduzem a diminuição da confiança por parte do consumidor relativamente à qualidade do mesmo [25].

Determinou-se a estabilidade tartárica de todas as amostras de vinho, antes e após da adição das soluções  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{KCl}$ , pelo teste do frio e pelo teste do mini-contacto.

#### 2.4.3.1. Teste de mini-contacto

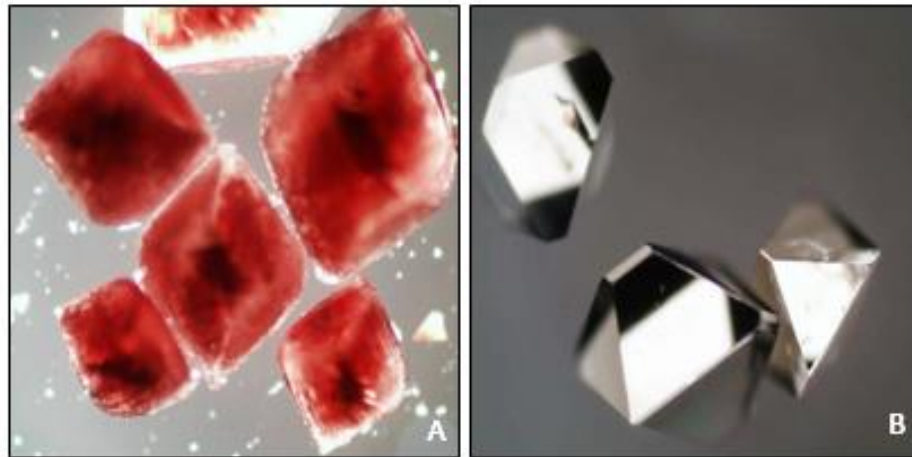
Para avaliar a eficácia de um determinado tratamento ou para quantificar a estabilidade do vinho usa-se o teste de “mini-contacto”. Este baseia-se na variação da condutividade do vinho em função do tempo de contacto, após adição de cristais de hidrogenotartarato de potássio, a uma temperatura próxima de  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  e sob agitação constante, tendo como objetivo conhecer o valor da variação da condutividade,  $\Delta\text{cond}$ . Quanto maior for o valor de  $\Delta\text{cond}$ , mais instável é o vinho. Tendo em conta que os iões potássio são os principais responsáveis pela condutividade no vinho, quanto maior for a diminuição da condutividade, maior é a quantidade de hidrogenotartarato de potássio que precipitou, logo, maior será a instabilidade do vinho [16].

#### 2.4.3.2. Observação ao microscópio

Os depósitos de hidrogenotartarato de potássio podem estar presentes em quantidades que variam desde vários gramas de cristais no fundo da garrafa até a alguns cristais que aderem à cortiça. Estes cristais são ortorrômbicos que se apresentam com a estrutura de cristais cúbicos esticados ao longo de dois dos três eixos, e podem ter várias formas características, incluindo prismas retangulares e diamantes. Nos vinhos tintos, os cristais são invariavelmente coloridos e vermelhos escuros, como resultado da adsorção de pigmentos na rede cristalina.

Os depósitos de tartarato de cálcio, geralmente são brancos ou incolores e apresentam a forma de losango ou prisma.

Na figura 2.3, encontram-se representados os cristais de hidrogenotartarato de potássio e de tartarato de cálcio [26].



**Figura 2.3** – Precipitações tartáricas: A – Hidrogenotartarato de potássio, B – Tartarato de cálcio [26].



## Capítulo 3- Parte experimental

### 3.1. Reagentes e soluções

Na preparação de soluções padrão para EAA usaram-se soluções stock de 1000 mg/L da Sigma-Aldrich para o Ca, Mg, K e Na. Dependendo do elemento em estudo foi adicionado CsCl (99%; da marca Acros Organic) e o cloreto de lantânio (p.a.; da marca Fisher Chemical). Para a digestão das amostras foi usado o ácido HNO<sub>3</sub> 65% (Suprapur) da marca Fluka.

Na preparação dos vinhos de teste foram utilizadas soluções de cloreto de cálcio 98 g/L (35 g/L em Ca) e cloreto de potássio 179 g/L (94 g/L em K), preparadas a partir dos reagentes sólidos comerciais CaCl<sub>2</sub> (88,8%) e KCl (p.a.) ambos da marca Merck. Estas soluções foram preparadas em solução hidroalcoólica a 20 % (V/V) e o pH das soluções foi reajustado a 3,50, usando ácido tartárico puro, da marca Alvinesa Alcoholera Vinicola Sociedad. É de salientar, que o ácido tartárico adicionado nas amostras é desprezável, face aos valores de potássio e cálcio adicionado, uma vez que a concentração de tartarato mais elevada corresponde a  $1,87 \times 10^{-3}$  g/L.

Neste estudo, foi utilizada a goma arábica Supergum da marca A. Freitas Vilar, Lda, é um estabilizador produzido a partir de Acacia Verek e Acacia Seyal [27].

Na determinação da estabilidade tartárica, utilizou-se o reagente sólido comercial hidrogenotartarato de potássio (99,5%) da marca Delta Acque.

Na preparação das soluções padrão de ferro para o teste de linearidade no método colorimétrico (Kit), utilizou-se uma solução stock de Fe para EAA de 1000 mg/L da Sigma-Aldrich.

Para a determinação da concentração dos elementos Ca, Na, Mg e K presentes nas amostras de Vinho do Porto foi necessário traçar as curvas de calibração a partir das soluções padrão obtidas por diluições adequadas, a partir dos padrões 1000 mg/L ou a partir de um padrão de concentração intermédia (10 mg/L). Todas as soluções padrão foram acidificadas a 0,5 % (V/V) em HNO<sub>3</sub> e adicionou-se o modificador. Na Tabela 3.1 apresentam-se as gamas de trabalho estabelecidas para cada elemento, as concentrações do modificador e os fatores de diluição na preparação das amostras.

**Tabela 3.1** - Preparação de soluções padrão para análise por espectrofotometria de absorção atômica.

Elemento	Intervalo de concentrações (ppm)	Modificadores (%)		Fator de diluição das amostras
		CsCl	LaCl <sub>3</sub> .7H <sub>2</sub> O	
Na	0,50 – 2,00	2	-	20
Mg	0,25 – 1,00	-	-	200
Ca	1,00 – 5,00	-	10	[20 – 200]
K	0,20 – 0,80	2	-	[200 – 3000]

### 3.2. Vinhos de testes

Os vinhos do Porto tintos selecionados para este estudo pertenciam à categoria Tawny velho. As amostras designadas por A diz respeito ao Vinho do Porto Tawny 30 anos e as amostras B a um Vinho do Porto Colheita 1982. De cada vasilha, foram retiradas 27 tomas de 50 mL e procedeu-se à codificação das mesmas. No ensaio 1, ensaio 2 e ensaio 3 foram adicionadas concentrações crescentes de Ca e K. Posteriormente as amostras foram colocadas à temperatura ambiente (ensaio1) e à temperatura de -4 °C (ensaio 2 e 3).

Para os ensaios de Fe pelo método colorimétrico utilizou-se três padrões de referência de Vinho do Porto todos da categoria Tawny velho, designadas por V1, V2 e V3.

### 3.3. Preparação das amostras

A cada toma de 500 mL de Vinho do Porto adicionou-se diferentes volumes de cloreto de potássio ou de cloreto de cálcio, de modo a averiguar o comportamento do vinho perante os diferentes níveis de iões em solução, bem como analisar a quantidade de depósito que precipita ao longo do tempo. As amostras do ensaio 2 e 3 foram armazenadas numa arca frigorífica (aproximadamente -4 °C) e à temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) no ensaio 1, de forma a estudar o efeito da temperatura na precipitação dos depósitos. No ensaio 3 também se adicionou supergum. As amostras A-1, A-6, A-11, B-1, B-6 e B-11 foram ensaios em branco, em que as amostras A-1 e B-1, A-6 e B-6, A-11 e B-11 foram colocadas à temperatura ambiente, à temperatura de -4 °C e à temperatura de -4 °C mas com adição de

supergum. Na tabela 3.2 pode observar-se a descrição dos códigos utilizados para os vinhos em estudo, bem como as respetivas variantes.

O armazenamento foi efetuado durante seis meses, sendo as amostras observadas semanalmente, para a análise da estabilidade tartárica.

Ao fim de 6 meses de estágio, colocou-se as amostras à temperatura ambiente e verificou-se por análise ocular se havia a existência de precipitação de cristais. De seguida, procedeu-se à filtração das amostras, de modo a recolher os cristais depositados no fundo das garrafas, para tal recorreu-se a filtros de pregas. De seguida, fez-se passar pequenas quantidades de água pelos cristais, para eliminar impurezas e restos de matéria corante, e colocou-se os mesmos na estufa a uma temperatura de 40 °C durante 24 horas, de forma a secar e a evaporar lentamente a água. Após este processo, retirou-se os mesmos da estufa, deixou-se arrefecer e depois procedeu-se à pesagem dos cristais. Seguidamente, retirou-se uma pequena fração de cristais para a análise microscópica. Com os restantes cristais procedeu-se à digestão ácida em placa de aquecimento. Para tal, usou-se 7 mL de HNO<sub>3</sub> 65% e 1 mL de água ultrapura. É de salientar, que a quantidade de precipitado nas amostras A-5 e A-10 foi escassa, sendo necessário mergulhar o filtro em 7 mL de HNO<sub>3</sub>, antes de fazer-se a digestão ácida. Por fim, procedeu-se à quantificação do cálcio, potássio, magnésio e sódio nas amostras digeridas.

Para o estudo do método colorimétrico para a determinação de Fe, utilizou-se 3 padrões de Vinho do Porto Tawny velho, que foram designadas por V1, V2 e V3.

**Tabela 3.2** - Descrição dos códigos utilizados para os vinhos em estudo, bem como as respetivas variantes, nos ensaios de 500 mL do vinho A e B.

Código da amostra	[Ca] mg Ca	[K] mg K	[Ca] mg/L Ca	[K] mg/L K	Volume Supergum adicionar (mL)	Volume CaCl <sub>2</sub> adicionar (mL)	Volume KCl adicionar (mL)	Temperatura de Estágio (°C)	Observações
<b>A-1/B-1</b>	-	-	-	-	-	-	-	Temperatura Ambiente	<b>Ensaio em branco</b>
<b>A-6/B-6</b>	-	-	-	-	-	-	- 4		
<b>A-11/B-11</b>	-	-	-	-	0,70	-	- 4		
<b>A-2/B-2</b>	31,1	-	62,2	-	-	0,987	-	Temperatura Ambiente	<b>Ensaio 1/Ca</b>
<b>A-3/B-3</b>	62,2	-	124,4	-	-	1,974	-		
<b>A-4/B-4</b>	124,4	-	248,7	-	-	3,947	-		
<b>A-5/B-5</b>	248,7	-	497,4	-	-	7,894	-		
<b>A-7/B-7</b>	31,1	-	62,2	-	-	0,987	-	- 4	<b>Ensaio 2/Ca</b>
<b>A-8/B-8</b>	62,2	-	124,4	-	-	1,974	-		
<b>A-9/B-9</b>	124,4	-	248,7	-	-	3,947	-		
<b>A-10/B-10</b>	248,7	-	497,4	-	-	7,894	-		
<b>A-12/B-12</b>	31,1	-	62,2	-	0,70	0,987	-	- 4	<b>Ensaio 3/Ca</b>
<b>A-13/B-13</b>	62,2	-	124,4	-		1,974	-		
<b>A-14/B-14</b>	124,4	-	248,7	-		3,947	-		
<b>A-15/B-15</b>	248,7	-	497,4	-	-	7,894	-		
<b>A-16/B-16</b>	-	200,0	-	400,0	-	-	2,13	Temperatura Ambiente	<b>Ensaio 1/K</b>
<b>A-17/B-17</b>	-	400,0	-	800,0	-	-	4,26		
<b>A-18/B-18</b>	-	800,0	-	1600,0	-	-	8,53		
<b>A-19/B-19</b>	-	1600,0	-	3200,0	-	-	17,05		
<b>A-20/B-20</b>	-	200,0	-	400,0	-	-	2,13	- 4	<b>Ensaio 2/K</b>
<b>A-21/B-21</b>	-	400,0	-	800,0	-	-	4,26		
<b>A-22/B-22</b>	-	800,0	-	1600,0	-	-	8,53		
<b>A-23/B-23</b>	-	1600,0	-	3200,0	-	-	17,05		
<b>A-24/B-24</b>	-	200,0	-	400,0	0,70	-	2,13	- 4	<b>Ensaio 3/K</b>
<b>A-25/B-25</b>	-	400,0	-	800,0		-	4,26		
<b>A-26/B-26</b>	-	800,0	-	1600,0		-	8,53		
<b>A-27/B-27</b>	-	1600,0	-	3200,0		-	17,05		

### 3.4. Estabilidade tartárica

A estabilidade tartárica das amostras foi determinada por dois métodos: o teste do frio e o teste do mini-contacto longo.

O teste do frio consistiu em colocar as amostras na arca frigorífica, a uma temperatura de -4 °C, durante seis meses, sendo estas observadas semanalmente. Após o período de estágio

dos vinhos, as amostras foram retiradas da arca frigorífica. Quando atingiram a temperatura ambiente, observou-se a olho nu se havia existência de depósito no fundo da garrafa.

A quantificação da estabilidade tartárica do vinho em estudo pelo teste mini-contacto foi realizado no Check Stab Alfa 2012, da marca Delta Acque, que está representado na figura 3.1. Este equipamento mede a variação da condutividade, em  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , ao longo do tempo, em minutos. É de referir, que este equipamento está equipado com um banho de refrigeração [28].



**Figura 3.1** - Check Stab Alfa 2012 da marca Delta Acque.

No teste de mini-contacto, colocou-se 100 mL de amostra num gobelé de 150 mL e este foi inserido na respetiva cavidade no banho termostatzado. Posteriormente, insere-se a sonda de temperatura, a célula condutimétrica e o agitador mecânico na solução. De seguida, na opção “Mini-contacto” do equipamento, registava-se o nome do ensaio, seleccionava-se o tipo de amostra a analisar e era indicada a pasta onde se pretendia guardar o ficheiro. Após a estabilização da temperatura da amostra a  $-4^{\circ}\text{C}$ , o dispensador adicionava automaticamente 2 g de hidrogenotartarato de potássio, iniciando assim a análise da estabilidade tartárica. O ensaio de estabilidade tartárica termina quando a condutividade da solução não variava [28].

No fim do ensaio, obtinha-se o gráfico do teste, que relaciona a condutividade ao longo do tempo. Optando pelo mini-contacto relativo, o gráfico era representativo de 240 leituras e apresenta 4 zonas distintas de estabilidade tartárica, consoante o valor da variação da condutividade. Os gráficos com esta segmentação permitem uma avaliação das amostras, desde, “muito estável”, “estável”, “em risco” e “ não estável”. Estes quatro níveis estão ordenados por ordem crescente de variação de condutividade no teste e conseqüente ordem

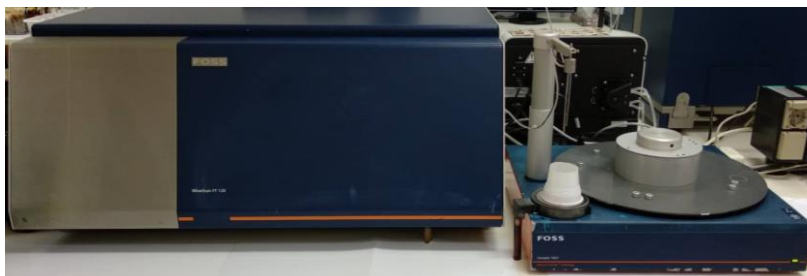
crescente de possibilidade de ocorrer precipitação tartárica. A classificação do vinho relativamente à sua estabilidade, foi baseada nas categorias apresentadas na tabela 3.3, que define os limites da variação da condutividade de acordo com estudos internos [29]. Terminada a análise de estabilidade utilizando o Check Stab, deve-se retirar o conjunto das sondas e o gobelé das amostras, seguindo-se da limpeza das mesmas com água desionizada e papel absorvente.

**Tabela 3.3** - Valores da variação da condutividade para classificação da zona de estabilidade dos vinhos [29].

Classificação da estabilidade do vinho	$\Delta$ Cond ( $\mu$ S/cm)
	Vinhos do Porto tintos
Muito estável	Até 12
Estável	12 – 18
Zona de risco	18 – 30
Instável	A partir de 30

### 3.5. Análise dos parâmetros Físico-químicos por FTIR

As análises físico-químicas aos vinhos foram realizadas no laboratório da empresa Symington Family Estates, Vinhos, S.A. Para tal, utilizou-se um auto-analisador WineScan FT 120, da FOSS, como está apresentado na figura 3.2. Neste equipamento foram determinadas os seguintes parâmetros: massa volúmica ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ), teor de álcool % (V/V), acidez volátil ( $\text{g}/\text{L}$  em ácido acético), acidez total ( $\text{g}/\text{L}$  em ácido tartárico), pH e açúcares redutores ( $\text{g}/\text{L}$ ). Cada parâmetro analítico foi analisado em triplicado e sequencialmente por amostra. O volume de amostra usado foi de 10 mL.



**Figura 3.2** - Auto-analisador WineScan FT 120 da FOSS.

### 3.6. Análise dos iões metálicos

#### 3.6.1. Espectrofotometria de absorção atómica

Para a determinação dos iões metálicos por EAA por chama foi utilizado um espectrofotómetro AA Spectrometer da Thermo Scientific, equipado com um queimador de ar/acetileno e lâmpada de cátodo oco, o qual está representado na figura 3.3. A intensidade da corrente da lâmpada de cátodo oco e o comprimento de onda usados para cada elemento, encontram-se representadas na tabela 3.4.



**Figura 3.3** - Espectrofotómetro de absorção atómica da Thermo Scientific.

Para a determinação de cálcio foi adicionado cloreto de lantânio, uma vez que é um elemento refratário e elimina as interferências originadas pela presença de fosfatos [10]. No entanto para a quantificação do potássio e do sódio foi adicionado cloreto de cézio, visto que são facilmente ionizáveis. Assim, o cézio é um elemento que se ioniza mais facilmente, deslocando o equilíbrio de ionização no sentido oposto à formação de iões potássio, uma vez que há um excesso de eletrões na chama. Com as concentrações dos padrões de calibração e as respetivas absorvâncias, traçou-se uma curva de calibração com um coeficiente de determinação superior a 0,995. De seguida, efetuou-se a leitura das absorvâncias das amostras, previamente diluídas, ver tabela 3.4. A determinação dos metais em cada amostra foi realizada em duplicado.

**Tabela 3.4** - Condições instrumentais para a determinação de cada elemento.

Catião	Comprimento de onda (nm)	Energia da lâmpada (mA)	Fator de diluição
Sódio	589,0	8	20
Magnésio	285,2	4	100
Cálcio	422,7	6	[20 – 200]
Potássio	766,5	8	[200 – 4000]
Ferro	248,3	15	2

### 3.6.2. Método colorimétrico

O método colorimétrico comercial (Kit) foi avaliado na determinação de ferro, recorrendo-se a um espectrofotómetro PowerWave XS, da BioTek, para as medições da absorvância das soluções num determinado comprimento de onda. O equipamento usado está representado na figura 3.4.

De modo a testar a linearidade do método, preparam-se várias soluções de ferro a partir de uma solução-mãe de ferro 1000 mg/L ao longo de cinco dias. De seguida, aplicou-se o procedimento experimental do manual do equipamento indicado abaixo para a determinação da concentração de ferro nas amostras, que é descrito a seguir [11]. Este procedimento foi realizado em triplicado durante quatro dias.



**Figura 3.4** - Espectrofotómetro PowerWave XS da BioTek.

## Método colorimétrico para determinação do ferro

### Procedimento Experimental

- I. Pipetar para uma microplaca de 96 poços os reagentes que constam na tabela 3.5.

**Tabela 3.5** – Volume a adicionar de água destilada e de reagente A.

	Branco	Padrão/Amostra
Padrão/Amostra	-	30 µL
Água Destilada	30 µL	-
Reagente A	180 µL	180 µL

- II. Misturar e incubar no equipamento durante 5 minutos, à temperatura ambiente no equipamento. De seguida, ler a absorvância ( $A_1$ ) a 560 nm;
- III. Posteriormente adicionar o reagente B, nas quantidades apresentadas na tabela 3.6;

**Tabela 3.6** – Volume a adicionar de reagente B.

	Branco	Padrão/Amostra
Reagente B	45 µL	45 µL

- IV. Seguidamente, misturar e incubar durante 5 minutos à temperatura ambiente. Ler a absorvância ( $A_2$ ) do branco de reagente, do padrão e da amostra a 560 nm;
- V. Calcular a concentração de ferro através da equação 3.1.

$$\frac{(A_2 - 0,82A_1)_{Amostra} - (A_2 - 0,82A_1)_{Branco}}{(A_2 - 0,82A_1)_{Padrão} - (A_2 - 0,82A_1)_{Branco}} \times 10,0 = mg/L \quad (3.1)$$



## Capítulo 4- Resultados e discussão

### 4.1. Perfil da estabilidade dos vinhos

Determinou-se a estabilidade tartárica de todas as amostras de vinho, antes e após da adição das soluções  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{KCl}$ , pelo teste qualitativo (teste do frio) e pelo teste quantitativo (teste do mini-contacto).

Como referido anteriormente, as amostras foram colocadas à temperatura ambiente do laboratório e verificou-se se havia a existência de precipitação de cristais. Esta metodologia, foi efetuada a todas as amostras, logo após a adição das soluções de Ca e K. As alterações visualizadas foram codificadas por siglas, segundo a descrição dada na tabela 4.1, por exemplo, o resultado da amostra A-1 (SLB, D0, C1), significa que a solução apresentava-se ligeiramente baça e com cristais difíceis de observar. Os resultados observados após os seis meses de estágio para todos os vinhos A e B estão representados na tabela 4.2.

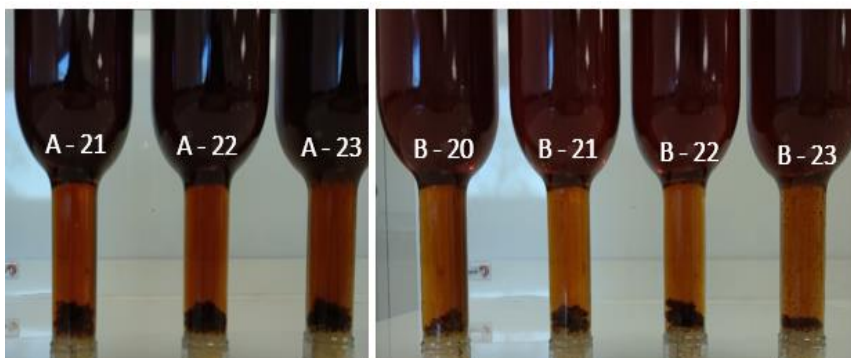
**Tabela 4.1** – Codificação das amostras.

Código	Designação	Siglas dos níveis de alteração
S	Solução	SL – Solução limpa
		SLB – Solução ligeiramente baça
		SB – Solução baça
D	Depósito	D0 – Não apresenta depósito
		D1 – Apresenta um depósito ínfimo
		D2 – Apresenta pouco depósito
		D3 – Apresenta muito depósito
C	Cristais	C0 – Não apresenta cristais
		C1 – Apresenta cristais difíceis de observar
		C2 – Apresenta poucos cristais
		C3 – Apresenta muitos cristais

Com base no teste do frio, concluiu-se que todas as amostras sofreram alterações ao longo do tempo, mesmo os ensaios em branco, uma vez que nenhuma das amostras se encontrava límpida e sem depósito ou cristais (SL, D0, C0) no final do período de estágio. No entanto só as amostras que apresentavam cristais é que se podem definir como instáveis tartaricamente.

Assim, o grupo de amostras da A-21 à A-27 e B-20 à B-27 apresentaram uma maior quantidade de cristais, como esperado, uma vez que estas foram submetidas a uma temperatura de  $-4^{\circ}\text{C}$ , acelerando o processo de cristalização, como pretendido. Na figura 4.1 encontra-se representado as garrafas dos vinhos do Porto em estudo para as amostras A-21 à A-23 e B-20 à B-23.

A precipitação de depósito sob a forma de matéria corante, só ocorreu nas amostras onde não se adicionou supergum, uma vez que este funciona como estabilizador da matéria corante. A introdução deste produto melhorou a estabilidade tartárica das amostras, no entanto, não inibiu o aparecimento de cristais nos ensaios 3.



**Figura 4.1** – Precipitados obtidos nas garrafas dos vinhos do Porto em estudo.

**Tabela 4.2** - Resultados visuais obtidos no teste do frio para todas as amostras, após os 6 meses de estágio.

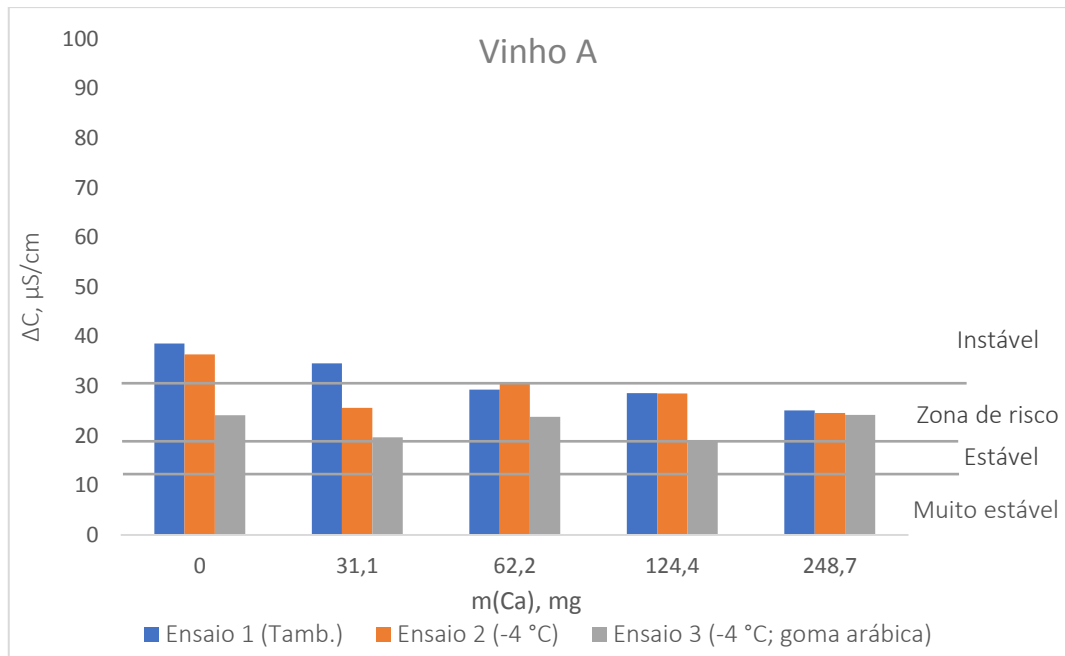
Vinho A	Observação	Vinho B	Observação	Observações
A-1	SLB D0 C1	B-1	SB D1 C1	Ensaio em branco
A-6	SLB D1 C1	B-6	SLB D1 C2	
A-11	SL D0 C1	B-11	SL D0 C1	
A-2	SLB D0 C1	B-2	SB D1 C1	Ensaio 1/Ca (Tamb.)
A-3	SLB D0 C1	B-3	SB D2 C1	
A-4	SLB D0 C1	B-4	SB D2 C1	
A-5	SLB D0 C1	B-5	SB D2 C2	Ensaio 2/Ca (- 4 °C)
A-7	SLB D1 C1	B-7	SLB D1 C2	
A-8	SLB D1 C1	B-8	SLB D1 C2	
A-9	SLB D1 C1	B-9	SB D1 C2	Ensaio 3/Ca (- 4 °C; goma arábica)
A-10	SB D1 C1	B-10	SB D1 C2	
A-12	SL D0 C1	B-12	SL D0 C1	
A-13	SL D0 C1	B-13	SLB D0 C1	Ensaio 1/K (Tamb.)
A-14	SL D0 C1	B-14	SLB D0 C1	
A-15	SL D0 C1	B-15	SB D0 C1	
A-16	SLB D1 C1	B-16	SB D1 C1	Ensaio 2/K (- 4 °C)
A-17	SLB D1 C1	B-17	SB D1 C1	
A-18	SLB D1 C1	B-18	SB D2 C1	
A-19	SLB D1 C1	B-19	SB D2 C1	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
A-20	SL D0 C2	B-20	SB D1 C3	
A-21	SL D0 C3	B-21	SB D1 C3	
A-22	SLB D0 C3	B-22	SB D2 C3	
A-23	SB D1 C3	B-23	SB D2 C3	
A-24	SL D0 C3	B-24	SL D0 C3	
A-25	SL D0 C3	B-25	SL D0 C3	
A-26	SL D0 C3	B-26	SLB D0 C3	
A-27	SL D0 C3	B-27	SB D0 C3	

O teste de mini-contacto prevê a estabilidade do vinho, com base na variação da condutividade do mesmo ao ser adicionado hidrogenotartarato de potássio, a uma temperatura igual a -4 °C. Nos anexos A.1 e B.1 constam os valores das condutividades obtidas para o momento da adição das soluções e para após 6 meses de estágio, respetivamente.

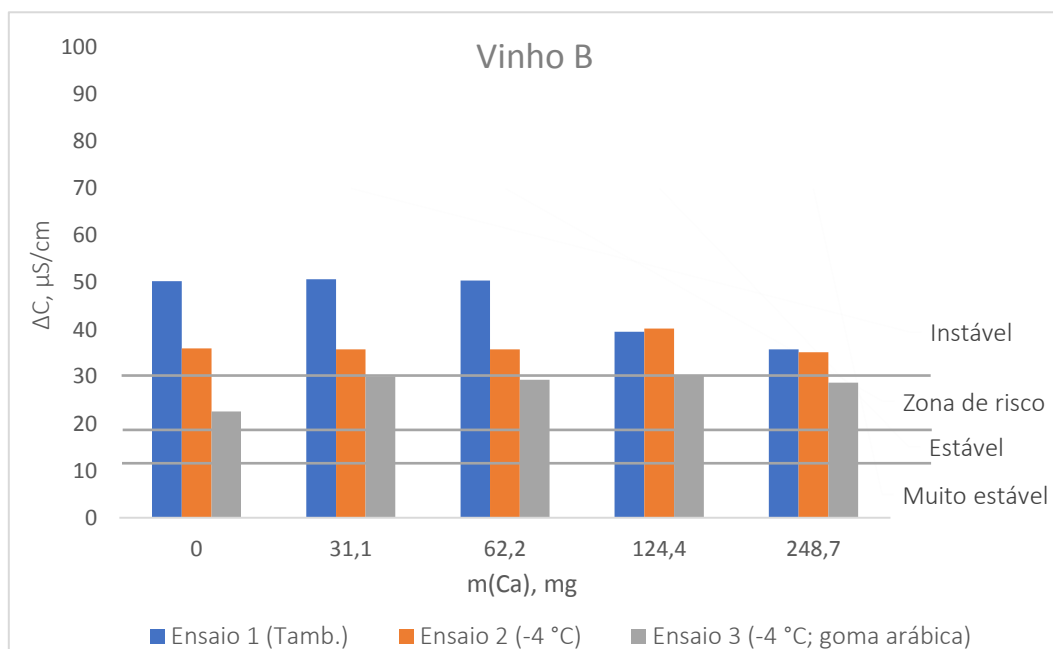
Observou-se que no momento inicial todas as amostras se encontravam na “zona de risco” e “instável”, quer para a adição de cálcio e de potássio. Este facto seria de esperar, pelos resultados obtidas para as amostras A-1, A-6, B-1 e B-6 (controlos sem adição de Ca, K e goma arábica) que indicam que os vinhos A e B são instáveis.

Os gráficos das figuras 4.2 e 4.3, apresentam os resultados obtidos da variação da condutividade,  $\Delta C$ , após 6 meses de estágio, pelo teste do mini-contacto para os brancos dos

vinhos (1, 6 e 11 de A e B) e para os ensaios 1, 2 e 3 em que se adicionou as diferentes concentrações de Ca para o vinho A e para o vinho B, respetivamente.



**Figura 4.2** – Queda da condutividade obtida no teste do mini-contacto em função das adições de cálcio ao fim de 6 meses de estágio, nos ensaios de 500 mL do vinho A.



**Figura 4.3** - Queda da condutividade obtida no teste do mini-contacto em função da adição de cálcio ao fim de 6 meses de estágio, nos ensaios de 500 mL do vinho B.

A variação da condutividade verificada para o vinho A e para o vinho B é superior a 18  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para todos os ensaios, uma vez que constam no patamar acima do “estável”, o que permitiu concluir que estes não apresentavam estabilidade tartárica. No entanto, é de salientar que com as adições de Ca, o Vinho A ficou na “zona de risco”, excepto os brancos sem goma arábica (ensaio 1 e 2) e para a amostra com 31,1 mg Ca adicionado no ensaio 1, que foram classificados como “instáveis”. Para o vinho B, todas as amostras do ensaio 1 e 2 encontram-se acima do patamar da “zona de risco”, e portanto instáveis.

Comparando os três ensaios efetuados, verificou-se que o ensaio 3 apresentou uma queda da condutividade menor face aos restantes, como esperado, pois a adição de supergum melhora a estabilidade tartárica.

As variações da condutividade obtidas para as amostras relacionadas com as adições de potássio para o vinho A e para o vinho B, encontram-se nas figuras 4.4 e 4.5. Os gráficos mostram que à temperatura ambiente (ensaio 1) quanto maior foi a quantidade de potássio adicionado aos vinhos maior foi a queda da condutividade. Para o vinho A e B, a queda da condutividade obtida foi superior ao limite definido para a estabilidade tartárica. Sendo que, para o vinho A, apenas o branco do ensaio 3 e a amostra onde foi adicionado 400 mg K para os ensaios 2 e 3, se encontravam no patamar da “zona de risco”. As amostras do vinho B foram classificadas como instáveis, com exceção das amostras do ensaio 3, com a presença de goma arábica, com adições de potássio inferiores a 400 mg K, que se encontravam na “zona de risco”.

É de salientar, que não foi possível analisar as amostras onde se adicionou 1600 mg de potássio, uma vez que o equipamento não consegue estabilizar para condutividades superiores a 2500  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

Comparando os ensaios efetuados, verificou-se que o armazenamento no frio (ensaios 2 e 3), levaram a uma queda da condutividade face ao ensaio 1, o que já era previsto, uma vez que a temperaturas baixas, favorecem o processo de cristalização.

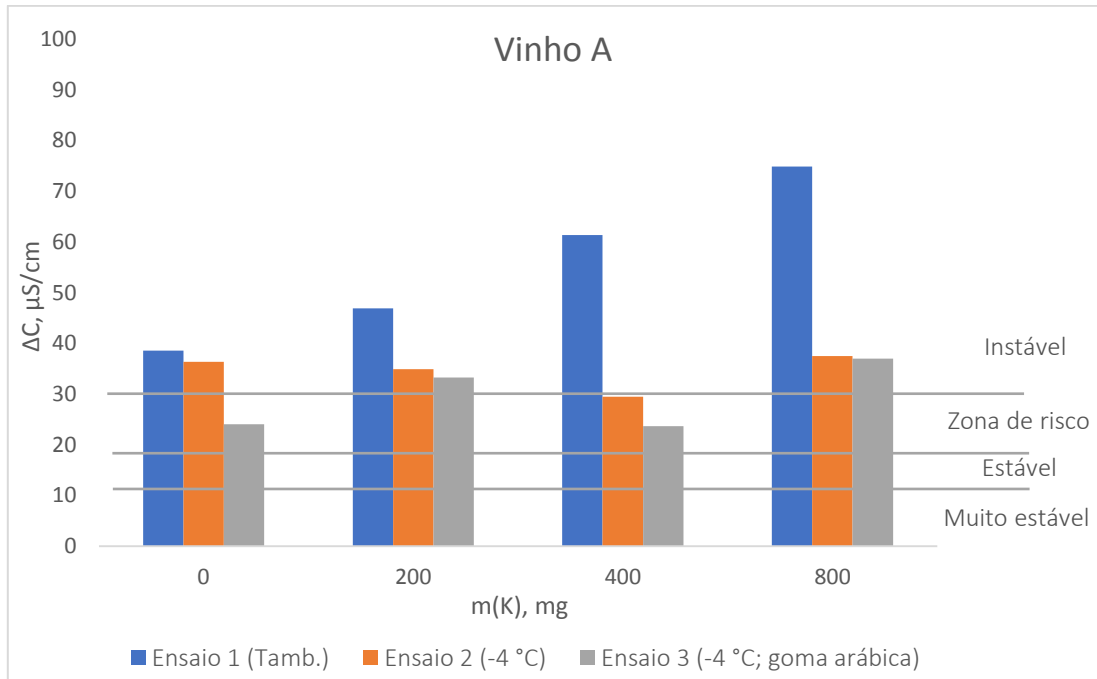


Figura 4.4 - Queda da condutividade obtida no teste do mini-contacto em função da adição de potássio ao fim de 6 meses de estágio, nos ensaios de 500 mL do vinho A.

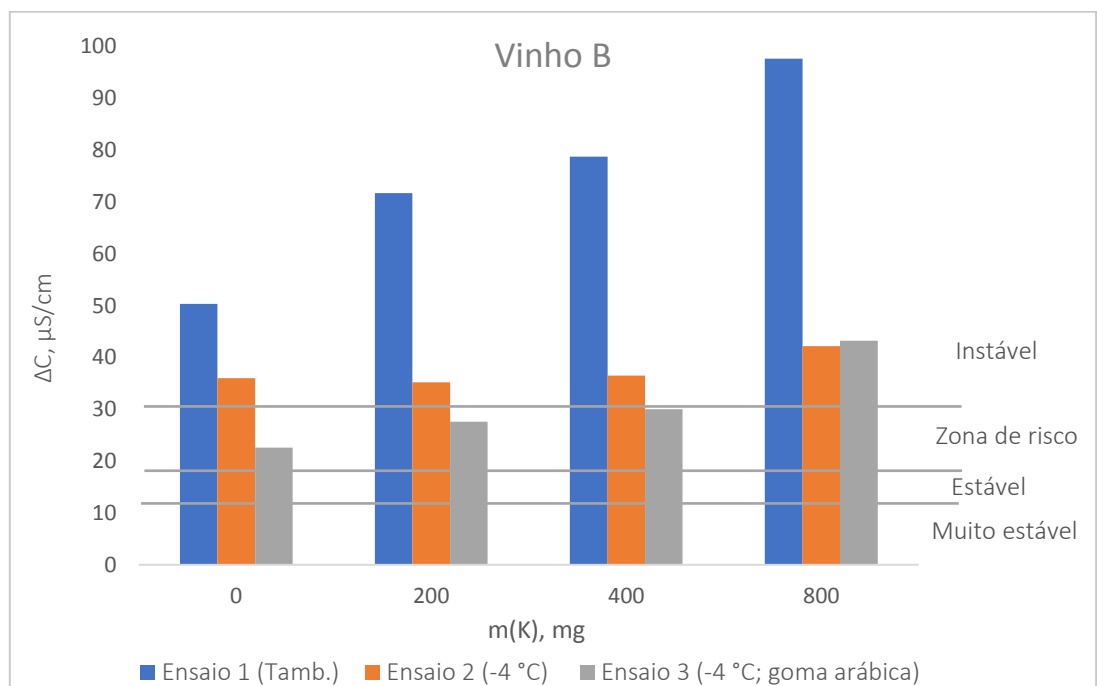


Figura 4.5 - Queda da condutividade obtida no teste do mini-contacto em função da adição de potássio ao fim de 6 meses de estágio, nos ensaios de 500 mL do vinho B.

## 4.2. Caraterização dos vinhos

Os vinhos A e B selecionados para este estudo foram caraterizados por FTIR , antes da preparação das diferentes amostras. Os parâmetros analisados foram o título alcoométrico volumétrico, os açúcares redutores, a acidez volátil, a acidez total, o pH e a massa volúmica. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 4.3. É de salientar, que nesta tabela também se inseriram os resultados dos testes de estabilidade tartárica.

Analisando os resultados da tabela, verificou-se que os vinhos em estudo apresentavam caraterísticas físico-químicas semelhantes, exceto para a acidez volátil e para a acidez total. Tal facto seria de esperar, uma vez que, estes vinhos do Porto pertencem à mesma categoria e são de idades muito próximas. No entanto, o vinho A diz respeito a um vinho composto por um blend de vários anos, enquanto que o vinho B é um vinho de uma só colheita, daí as diferenças obtidas. O parâmetro da acidez total é composto principalmente pelo ácido tartárico, o que sugere que o vinho B apresenta um maior grau de instabilidade tartárica.

**Tabela 4.3** - Parâmetros físico-químicos dos vinhos do Porto estudados.

	Designação	Vinho A	Vinho B
Parâmetros Físico- Químicos	Massa volúmica, MV (g/cm <sup>3</sup> )	1,0280 ± 0,11	1,0279 ± 0,09
	Titulo alcoométrico volumétrico, TAV (%)	20,12 ± 0,03	20,08 ± 0,05
	Acidez volátil, AV (g/L)	0,55 ± 0,03	0,83 ± 0,03
	Acidez total, AT (g/L)	4,66 ± 0,05	5,48 ± 0,07
	pH	3,49 ± 0,02	3,41 ± 0,04
	Açúcares Redutores, Ared (g/L)	119,7 ± 0,35	116,4 ± 0,32
	Estabilidade tartárica – Teste do frio	SLB D0 C1	SB D1 C1
	Estabilidade tartárica – Teste do mini-contacto (µS/cm)	37,9	52,9

### 4.3. Iões metálicos

Para a quantificação dos elementos metálicos nas amostras em estudo por EAA com atomização por chama, foram realizadas curvas de calibração no mesmo dia da análise das amostras. Os limites de deteção (LD) e quantificação (LQ) para a análise dos vinhos, foram os calculados a partir dos valores da curva de calibração, uma vez que o vinho não tinha pré-tratamento. O cálculo dos limites de deteção e quantificação para o método de determinação dos metais nos cristais do vinho, é exemplificado no anexo C.

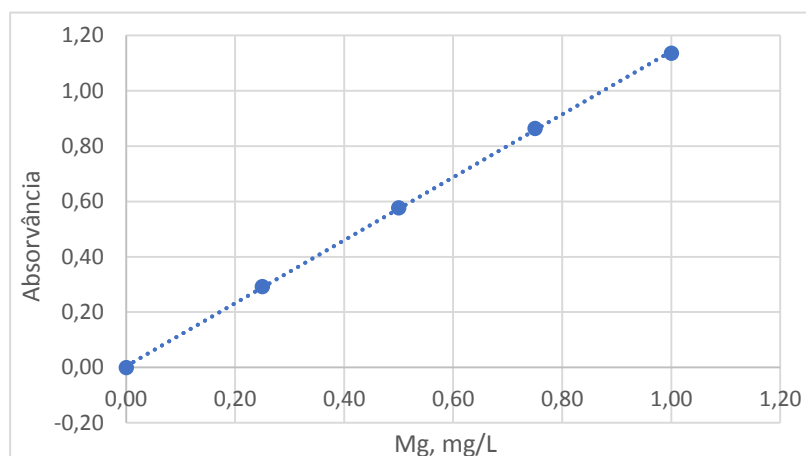
A quantidade inicial de Mg, Na, Ca e K, no vinho A e no vinho B estão representados na tabela 4.4. Esta análise evidenciou que o vinho B apresentava teores em Mg, Na e K mais elevados do que o vinho A.

**Tabela 4.4** - Quantidade inicial dos elementos metálicos em estudo para os dois vinhos do Porto.

Elemento	Vinho A	Vinho B
<b>Magnésio (mg Mg)</b>	59,7 ± 0,4	72,6 ± 0,5
<b>Sódio (mg Na)</b>	15,2 ± 0,5	20,1 ± 0,4
<b>Cálcio (mg Ca)</b>	32,5 ± 0,9	29,5 ± 0,9
<b>Potássio (mg K)</b>	505,0 ± 0,5	510,0 ± 0,4

#### 4.3.1. Magnésio

Os resultados da curva de calibração do Mg estão representados na figura 4.6. e na tabela 4.5. As concentrações médias de Magnésio em todas as amostras dos vinhos A e B e dos respetivos cristais analisados, estão apresentados na tabela 4.6.



**Figura 4.6** - Curva de calibração para o Mg.

**Tabela 4.5** - Parâmetros experimentais da curva de calibração do Mg.

Elemento	Magnésio
Intervalo de concentrações	0,100 – 1,00 mg/L
Intervalo de absorvâncias	0,292 – 1,136
Tipo de ajuste	Linear
a	1,138
b	0,0045
R <sup>2</sup>	0,9999
LD (vinho)	0,01 mg/L
LQ (vinho)	0,05 mg/L
LD (cristais)	1,08x10 <sup>-4</sup> mg/g cristais
LQ (cristais)	3,62x10 <sup>-4</sup> mg/g cristais

Tendo em conta que as concentrações iniciais de Mg no vinho A e B apresentavam, respetivamente, um valor de  $59,7 \pm 0,4$  mg e  $72,6 \pm 0,5$  mg , e com uma análise da tabela 4.6, podemos concluir que não ocorreu variação entre as concentrações iniciais de Mg e as concentrações de Mg no vinho após 6 meses de estágio. É de referir que o Mg foi detetado nos cristais, no entanto, os valores das soluções analisadas eram inferiores ao LQ ( $3,62 \times 10^{-4}$  mg/g cristais).

Assim sendo, foi possível afirmar que nos cristais precipitados nos vinhos A e B, a concentração de magnésio existente era diminuta.

Tabela 4.6 – Massa total obtida de Mg no vinho e nos cristais para as amostras A e B.

Código da amostra	[Mg] vinho (mg Mg)	[Mg] cristais (mg Mg)	Código da amostra	[Mg] vinho (mg Mg)	[Mg] cristais (mg Mg)	Observações
A-1	59,0 ± 0,5	<LQ	B-1	66,8 ± 0,8	<LQ	Ensaio em branco
A-6	59,2 ± 1,4	<LQ	B-6	65,8 ± 1,7	<LQ	
A-11	59,9 ± 2,1	<LQ	B-11	66,1 ± 1,5	<LQ	
A-2	60,2 ± 2,1	<LQ	B-2	66,3 ± 1,4	<LQ	Ensaio 1/Ca (Tamb.)
A-3	57,7 ± 2,3	<LQ	B-3	66,4 ± 1,9	<LQ	
A-4	59,2 ± 1,9	<LQ	B-4	66,2 ± 1,3	<LQ	
A-5	59,3 ± 2,1	<LQ	B-5	64,9 ± 1,3	<LQ	Ensaio 2/Ca (- 4 °C)
A-7	59,1 ± 2,1	<LQ	B-7	65,9 ± 1,6	<LQ	
A-8	60,0 ± 1,8	<LQ	B-8	65,7 ± 1,5	<LQ	
A-9	58,6 ± 0,6	<LQ	B-9	65,0 ± 1,1	<LQ	Ensaio 3/Ca (- 4 °C; goma arábica)
A-10	58,7 ± 2,3	<LQ	B-10	64,7 ± 1,8	<LQ	
A-12	60,7 ± 1,7	<LQ	B-12	66,0 ± 1,7	<LQ	
A-13	58,9 ± 1,4	<LQ	B-13	65,5 ± 1,7	<LQ	Ensaio 1/K (Tamb.)
A-14	59,1 ± 1,9	<LQ	B-14	65,2 ± 2,2	<LQ	
A-15	58,6 ± 1,1	<LQ	B-15	63,5 ± 0,6	<LQ	
A-16	58,4 ± 1,3	<LQ	B-16	64,7 ± 1,2	<LQ	Ensaio 2/K (- 4 °C)
A-17	60,4 ± 2,2	<LQ	B-17	64,8 ± 1,5	<LQ	
A-18	59,4 ± 1,7	<LQ	B-18	64,0 ± 1,2	<LQ	
A-19	58,3 ± 0,2	<LQ	B-19	62,7 ± 1,4	<LQ	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
A-20	58,1 ± 0,7	<LQ	B-20	64,8 ± 1,8	<LQ	
A-21	59,2 ± 2,2	<LQ	B-21	65,1 ± 0,1	<LQ	
A-22	57,8 ± 1,1	<LQ	B-22	63,5 ± 0,7	<LQ	Ensaio 1/K (Tamb.)
A-23	59,3 ± 0,6	<LQ	B-23	62,1 ± 0,9	<LQ	
A-24	60,0 ± 0,1	<LQ	B-24	64,7 ± 0,8	<LQ	
A-25	58,6 ± 2,1	<LQ	B-25	64,1 ± 1,4	<LQ	Ensaio 2/K (- 4 °C)
A-26	59,0 ± 0,9	<LQ	B-26	63,5 ± 1,7	<LQ	
A-27	57,5 ± 1,5	<LQ	B-27	61,8 ± 0,8	<LQ	

#### 4.3.2. Sódio

Os resultados da curva de calibração do Na estão representados na figura 4.7. e na tabela 4.7. As concentrações médias de Na em todas as amostras dos vinhos A e B e dos respetivos cristais analisados, estão apresentadas na tabela 4.8.

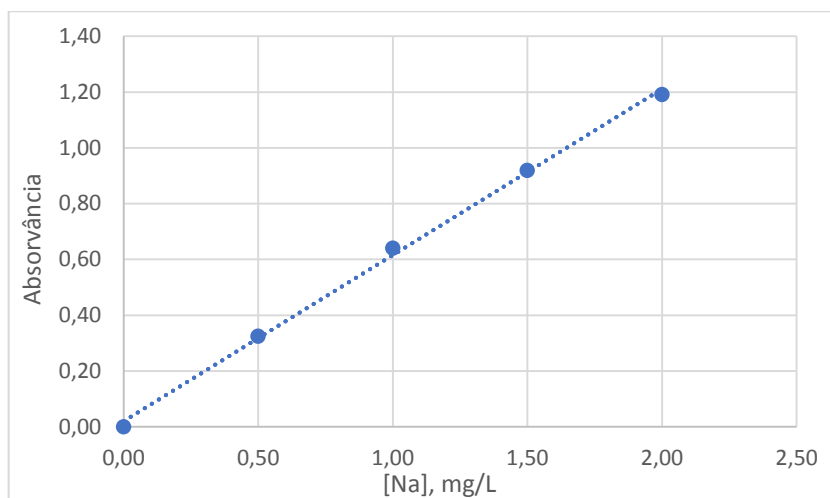


Figura 4.7 - Curva de calibração para o Na.

Tabela 4.7 - Parâmetros experimentais da curva de calibração do Na.

Elemento	Sódio
Intervalo de concentrações	0,500 – 2,00 mg/L
Intervalo de absorvâncias	0,325 – 1,192
Tipo de ajuste	Linear
a	0,5955
b	0,0199
R <sup>2</sup>	0,9992
LD (vinho)	0,11 mg/L
LQ (vinho)	0,37 mg/L
LD (cristais)	$8,68 \times 10^{-4}$ mg/g cristais
LQ (cristais)	$2,89 \times 10^{-3}$ mg/g cristais

As concentrações iniciais de Sódio obtidas para o vinho A e B, apresentavam um valor de  $15,2 \pm 0,5$  mg e  $20,1 \pm 0,4$  mg, verificando-se que os resultados obtidos no vinho após 6 meses de estágio, foram muito semelhantes. É de salientar que detetou-se Na nos cristais, mas não foi possível quantificar a sua concentração, pois os valores eram inferiores ao LQ ( $2,89 \times 10^{-3}$  mg/g cristais).

Desta forma, constatou-se que a presença de Na nos cristais precipitados nos vinhos A e B era mínima.

**Tabela 4.8** – Massa total obtida de Na no vinho e nos cristais para as amostras A e B.

Código da amostra	[Na] vinho (mg Na)	[Na] cristais (mg Na)	Código da amostra	[Na] vinho (mg Na)	[Na] cristais (mg Na)	Observações
A-1	15,7 ± 0,5	<LQ	B-1	19,6 ± 0,6	<LQ	Ensaio em branco
A-6	15,7 ± 1,5	<LQ	B-6	20,1 ± 0,6	<LQ	
A-11	16,0 ± 1,4	<LQ	B-11	20,3 ± 0,7	<LQ	
A-2	15,7 ± 0,7	<LQ	B-2	20,2 ± 0,7	<LQ	Ensaio 1/Ca (Tamb.)
A-3	16,3 ± 0,2	<LQ	B-3	20,7 ± 1,2	<LQ	
A-4	17,1 ± 0,8	<LQ	B-4	21,2 ± 1,4	<LQ	
A-5	18,1 ± 0,4	<LQ	B-5	22,5 ± 0,1	<LQ	
A-7	15,8 ± 1,6	<LQ	B-7	20,5 ± 0,4	<LQ	Ensaio 2/Ca (- 4 °C)
A-8	16,1 ± 1,4	<LQ	B-8	20,7 ± 0,5	<LQ	
A-9	16,8 ± 0,8	<LQ	B-9	21,4 ± 1,3	<LQ	
A-10	17,9 ± 0,4	<LQ	B-10	22,5 ± 0,4	<LQ	
A-12	15,7 ± 0,9	<LQ	B-12	20,7 ± 0,5	<LQ	Ensaio 3/Ca (- 4 °C; goma arábica)
A-13	16,2 ± 1,3	<LQ	B-13	20,3 ± 0,3	<LQ	
A-14	16,9 ± 0,7	<LQ	B-14	21,5 ± 0,8	<LQ	
A-15	18,0 ± 0,1	<LQ	B-15	22,6 ± 0,2	<LQ	
A-16	15,1 ± 1,0	<LQ	B-16	20,1 ± 0,3	<LQ	Ensaio 1/K (Tamb.)
A-17	15,5 ± 1,2	<LQ	B-17	20,9 ± 1,2	<LQ	
A-18	15,4 ± 1,3	<LQ	B-18	20,2 ± 0,8	<LQ	
A-19	15,4 ± 1,8	<LQ	B-19	19,7 ± 0,2	<LQ	
A-20	15,3 ± 0,9	<LQ	B-20	20,1 ± 0,3	<LQ	Ensaio 2/K (- 4 °C)
A-21	15,2 ± 0,4	<LQ	B-21	20,0 ± 0,6	<LQ	
A-22	15,1 ± 1,5	<LQ	B-22	19,8 ± 1,0	<LQ	
A-23	14,5 ± 1,5	<LQ	B-23	19,3 ± 0,7	<LQ	
A-24	15,7 ± 2,1	<LQ	B-24	20,1 ± 0,9	<LQ	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
A-25	15,1 ± 0,3	<LQ	B-25	19,9 ± 0,2	<LQ	
A-26	15,3 ± 0,3	<LQ	B-26	19,7 ± 0,8	<LQ	
A-27	15,0 ± 0,6	<LQ	B-27	19,4 ± 0,7	<LQ	

#### 4.3.3. Potássio

Os resultados da curva de calibração do K estão representados na figura 4.8 e na tabela 4.9. As concentrações médias de K em todas as amostras de vinho A e vinho B e dos respetivos cristais analisados encontram-se representados na tabela 4.10.

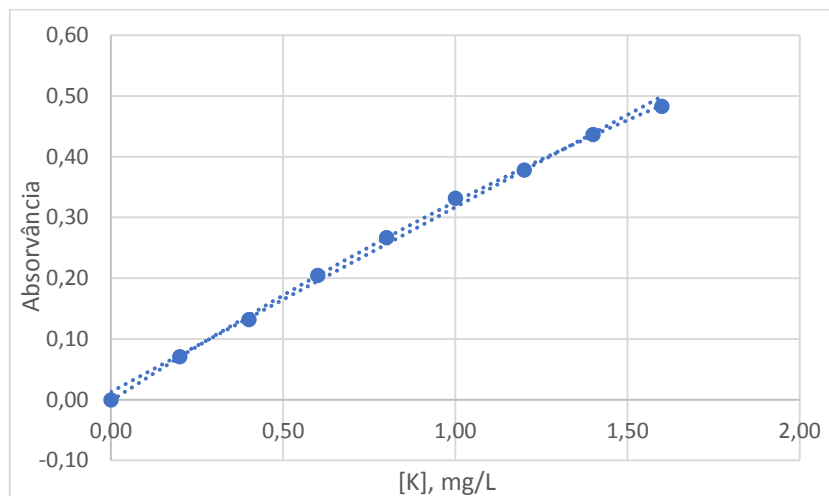


Figura 4.8 - Curva de calibração para o K.

Tabela 4.9 - Parâmetros experimentais da curva de calibração do K.

Elemento	Potássio
Intervalo de concentrações	0,200 – 1,60 mg/L
Intervalo de absorvâncias	0,0710 – 0,378
Tipo de ajuste	Quadrática
a	-0,1050
b	0,6108
c	-0,0018
R <sup>2</sup>	0,9999
LD (vinho)	0,01 mg/L
LQ (vinho)	0,04 mg/L
LD (cristais)	$8,68 \times 10^{-5}$ mg/g cristais
LQ (cristais)	$2,89 \times 10^{-4}$ mg/g cristais

**Tabela 4.10** - Massa total obtida de K no vinho e nos cristais para as amostras A e B.

Código da amostra	[K] Vinho (mg K)	[K] Cristais (mg K)	Código da amostra	[K] Vinho (mg K)	[K] Cristais (mg K)	Observações
A-1	491,2 ± 1,7	1,4 ± 0,1	B-1	524,6 ± 0,9	0,1 ± 0,1	Ensaio em branco
A-6	517,7 ± 0,2	1,4 ± 0,2	B-6	494,0 ± 0,7	15,5 ± 0,1	
A-11	505,9 ± 0,8	2,0 ± 0,1	B-11	511,9 ± 0,4	11,2 ± 0,3	
A-2	528,6 ± 1,1	0,9 ± 0,1	B-2	519,5 ± 0,9	0,1 ± 0,1	Ensaio 1/Ca (Tamb.)
A-3	499,8 ± 0,9	1,2 ± 0,2	B-3	528,0 ± 0,5	0,1 ± 0,6	
A-4	508,9 ± 1,0	1,4 ± 0,1	B-4	515,6 ± 0,3	0,2 ± 0,1	
A-5	514,9 ± 0,4	1,1 ± 0,5	B-5	516,3 ± 0,6	0,1 ± 0,7	
A-7	498,8 ± 0,9	3,2 ± 0,3	B-7	499,5 ± 0,2	7,3 ± 0,7	Ensaio 2/Ca (- 4 °C)
A-8	526,0 ± 1,1	1,4 ± 0,7	B-8	511,5 ± 0,6	8,5 ± 0,13	
A-9	491,4 ± 0,4	2,2 ± 0,3	B-9	508,6 ± 0,5	3,3 ± 0,6	
A-10	524,4 ± 1,1	3,8 ± 0,2	B-10	500,3 ± 0,6	1,5 ± 0,1	
A-12	548,7 ± 0,6	2,4 ± 0,8	B-12	518,9 ± 0,2	0,2 ± 0,1	Ensaio 3/Ca (- 4 °C; goma arábica)
A-13	520,9 ± 0,3	2,5 ± 0,1	B-13	521,3 ± 0,7	0,1 ± 0,4	
A-14	503,7 ± 0,6	0,1 ± 0,1	B-14	513,1 ± 0,6	0,1 ± 0,7	
A-15	501,9 ± 0,4	1,8 ± 0,2	B-15	500,8 ± 0,3	0,1 ± 0,1	
A-16	745,0 ± 1,1	2,9 ± 0,2	B-16	710,3 ± 0,5	0,2 ± 0,2	Ensaio 1/K (Tamb.)
A-17	912,1 ± 0,1	25,7 ± 0,2	B-17	929,2 ± 0,7	2,1 ± 0,3	
A-18	1358,5 ± 0,2	54,9 ± 0,6	B-18	1336,1 ± 0,2	3,1 ± 0,8	
A-19	2371,3 ± 0,3	24,2 ± 0,2	B-19	2122,6 ± 0,6	39,1 ± 0,2	
A-20	714,1 ± 0,8	505,0 ± 0,3	B-20	385,2 ± 0,3	281,9 ± 0,2	Ensaio 2/K (- 4 °C)
A-21	880,8 ± 0,9	500,6 ± 0,2	B-21	884,4 ± 0,7	298,1 ± 0,3	
A-22	1256,1 ± 0,6	535,0 ± 0,8	B-22	1255,3 ± 0,7	299,3 ± 0,8	
A-23	2138,2 ± 0,3	376,8 ± 0,6	B-23	2064,9 ± 0,4	314,7 ± 0,5	
A-24	698,4 ± 0,5	235,4 ± 0,2	B-24	360,3 ± 0,7	254,1 ± 0,1	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
A-25	874,4 ± 0,6	267,6 ± 0,1	B-25	863,3 ± 0,9	299,9 ± 0,9	
A-26	1445,3 ± 0,7	314,9 ± 0,4	B-26	1250,4 ± 0,4	288,5 ± 0,7	
A-27	1643,5 ± 0,3	300,9 ± 0,1	B-27	2100,7 ± 0,4	250,9 ± 0,1	

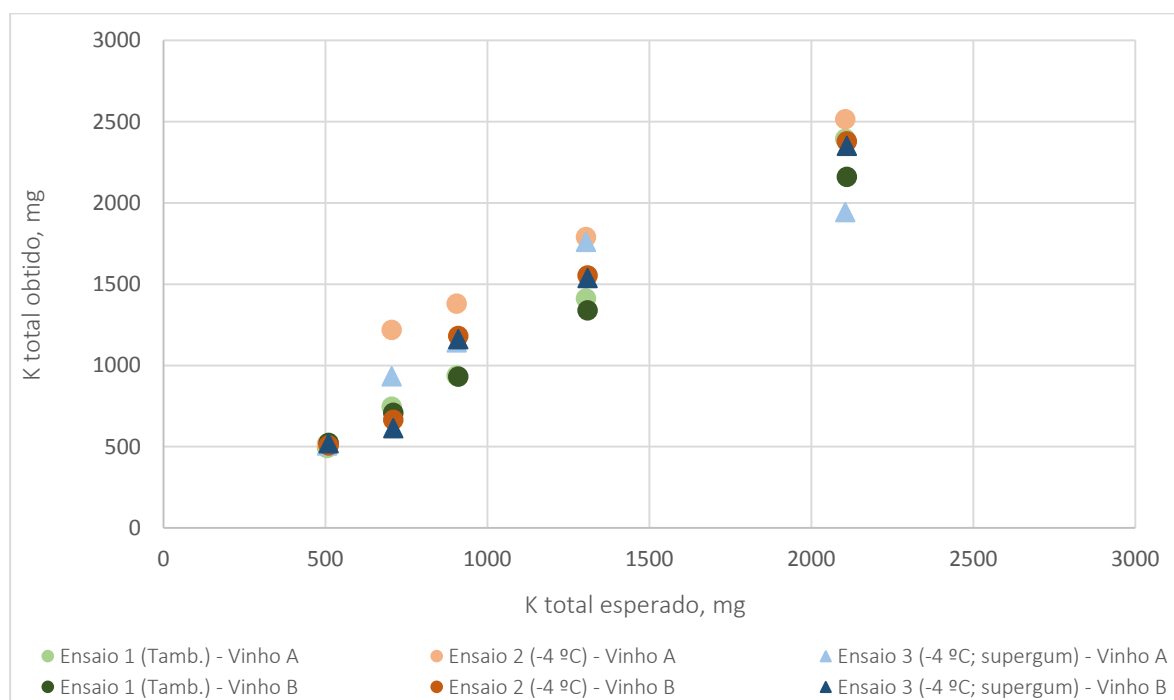
As variações observadas nas quantidades de potássio obtida nos três vinhos controlo (A1, A6 e A11) depois dos 6 meses são maiores do que a esperada, tendo um valor semelhante a quantidade original (A6), outra ligeiramente abaixo (A1) e outro consideravelmente mais alto (A6). Sendo assim, é difícil tirar conclusões através da comparação entre os vinhos. É de salientar a importância da presença e composição dos cristais.

Relativamente à concentração de cristais obtida, constatou-se que a quantidade de K obtida para o ensaio 1/Ca e para o ensaio 3/Ca foram menores do que para o ensaio 2/Ca, isto deveu-se ao facto do processo de cristalização ser mais lento à temperatura ambiente (ensaio 1) e, por outro lado, ser acelerado a temperaturas mais baixas (ensaio 2 e 3). No entanto, é de

salientar, que a quantidade de K precipitada nos cristais para o ensaio 3 foi menor do que para o ensaio 2, este facto está relacionado com a adição do supergum (estabilizador tartárico), exetuoando as amostras A-13 e B-25.

No gráfico da figura 4.9, encontra-se representado a quantidade total de K obtido, em função da quantidade total de K esperada. A quantidade total de K obtido advinha da soma das quantidades de K determinadas para o vinho e os cristais e a quantidade total de K esperada resultou da soma entre a quantidade de K já existente no vinho (tabela 4.4) com aquela quantidade que foi adicionada (tabela 3.2).

Observando o gráfico 4.9, verificou-se que existia uma tendência crescente para o vinho A e o B, no entanto, a quantidade total de K obtida era maior do que a esperada, este facto poderá estar relacionado com erros experimentais, nomeadamente, com o processo de secagem, humidade dos cristais, hidratação dos sais de tartarato, entre outros.



**Figura 4.9** - Valores da quantidade total de K (vinho e cristais), obtido em função da quantidade esperada nos vinhos A e B.

#### 4.3.4. Cálcio

Os resultados da curva de calibração do Ca estão representados na figura 4.10 e na tabela 4.11. As concentrações médias de Ca em todas as amostras de vinho A e B e dos respetivos cristais analisados, encontram-se representadas na tabela 4.12.

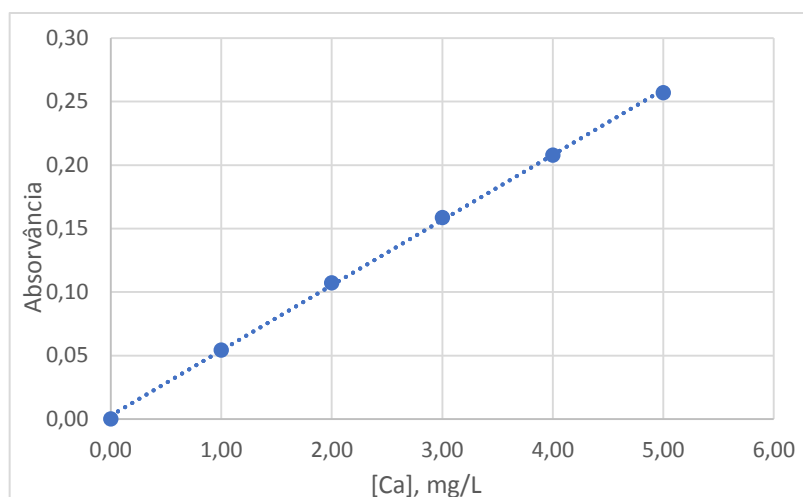


Figura 4.10 - Curva de calibração para o Ca.

Tabela 4.11 - Parâmetros experimentais da curva de calibração do Ca.

Elemento	Cálcio
Intervalo de concentrações	1,00 – 5,00 mg/L
Intervalo de absorvâncias	0,0545 – 0,257
Tipo de ajuste	Linear
a	0,05134
b	0,0027
R <sup>2</sup>	0,9998
LD (vinhos)	0,13 mg/L
LQ (vinhos)	0,43 mg/L
LD (cristais)	1,01x10 <sup>-3</sup> mg/g cristais
LQ (cristais)	3,35x10 <sup>-3</sup> mg/g cristais

**Tabela 4.12** - Massa total obtida de Ca no vinho e nos cristais para as amostras A e B.

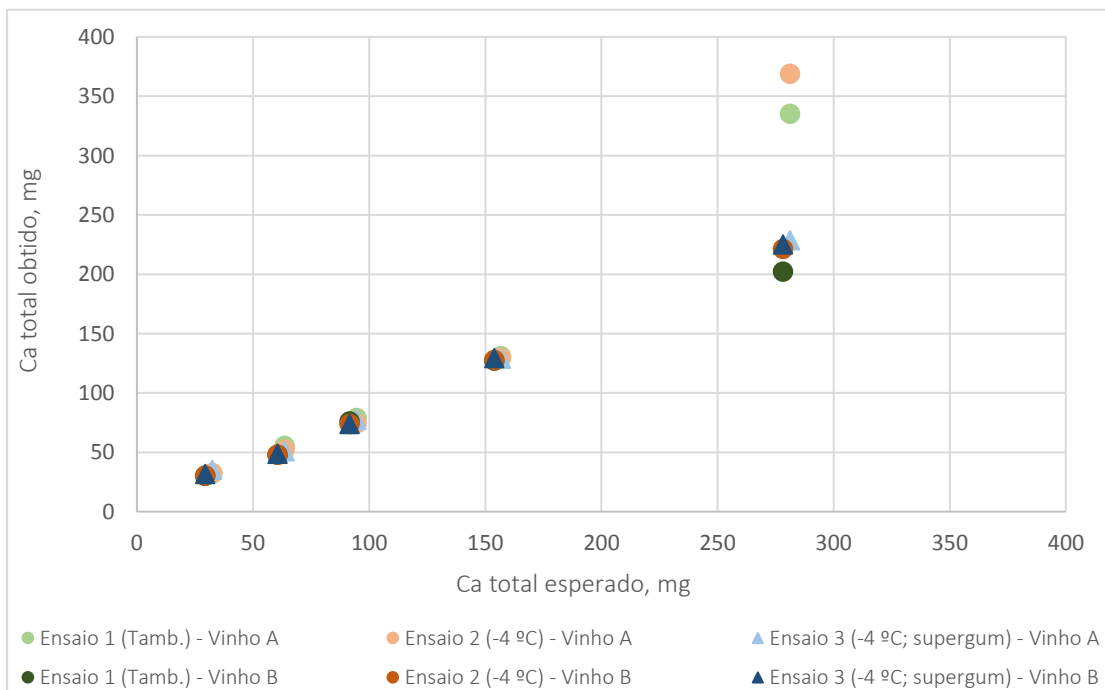
Código da amostra	[Ca] Vinho (mg Ca)	[Ca] Cristais (mg Ca)	Código da amostra	[Ca] Vinho (mg Ca)	[Ca] Cristais (mg Ca)	Observações
A-1	32,1 ± 0,3	<LQ	B-1	30,4 ± 0,8	<LQ	Ensaio em branco
A-6	32,6 ± 1,8	0,2 ± 0,1	B-6	30,7 ± 0,5	<LQ	
A-11	35,1 ± 1,5	0,3 ± 0,2	B-11	31,9 ± 0,3	<LQ	
A-2	54,1 ± 0,4	1,5 ± 0,6	B-2	47,5 ± 0,3	0,35 ± 0,1	Ensaio 1/Ca (Tamb.)
A-3	76,7 ± 0,5	2,5 ± 0,9	B-3	75,0 ± 0,9	1,17 ± 0,1	
A-4	127,7 ± 1,2	5,7 ± 0,1	B-4	125,5 ± 0,8	1,71 ± 0,4	
A-5	234,2 ± 1,9	101,0 ± 0,1	B-5	191,7 ± 1,5	11,50 ± 0,5	
A-7	50,8 ± 0,2	1,6 ± 0,1	B-7	47,4 ± 1,5	0,54 ± 0,3	Ensaio 2/Ca (- 4 °C)
A-8	72,2 ± 0,7	2,2 ± 0,2	B-8	72,8 ± 0,1	1,13 ± 0,2	
A-9	125,9 ± 0,1	4,0 ± 0,1	B-9	125,8 ± 0,7	1,99 ± 0,2	
A-10	217,9 ± 1,1	151,0 ± 0,6	B-10	211,0 ± 1,3	10,56 ± 0,1	Ensaio 3/Ca (- 4 °C; goma arábica)
A-12	49,6 ± 0,1	1,5 ± 0,3	B-12	48,2 ± 0,5	0,57 ± 0,2	
A-13	74,4 ± 0,1	3,1 ± 0,3	B-13	73,0 ± 0,7	1,06 ± 0,3	
A-14	125,3 ± 0,5	3,7 ± 0,2	B-14	127,4 ± 1,5	2,13 ± 0,1	
A-15	221,9 ± 1,3	6,8 ± 0,3	B-15	220,6 ± 1,5	4,66 ± 0,6	
A-16	31,2 ± 0,1	<LQ	B-16	29,6 ± 0,5	<LQ	Ensaio 1/K (Tamb.)
A-17	32,0 ± 0,2	<LQ	B-17	31,0 ± 0,2	<LQ	
A-18	31,5 ± 0,1	<LQ	B-18	29,6 ± 0,4	<LQ	
A-19	30,7 ± 0,3	<LQ	B-19	29,2 ± 0,1	<LQ	
A-20	31,5 ± 0,4	<LQ	B-20	30,1 ± 0,4	<LQ	Ensaio 2/K (- 4 °C)
A-21	31,4 ± 0,1	<LQ	B-21	29,4 ± 0,4	<LQ	
A-22	31,2 ± 0,4	<LQ	B-22	29,4 ± 0,4	<LQ	
A-23	30,7 ± 0,3	<LQ	B-23	28,4 ± 0,3	<LQ	
A-24	32,8 ± 0,2	<LQ	B-24	31,8 ± 0,3	<LQ	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
A-25	33,0 ± 0,1	<LQ	B-25	30,7 ± 0,7	<LQ	
A-26	32,3 ± 0,3	<LQ	B-26	30,5 ± 0,1	<LQ	
A-27	31,7 ± 0,1	<LQ	B-27	29,2 ± 0,1	<LQ	

Analisando a tabela 4.12, verificou-se que a concentração de Ca obtida nos ensaios em branco foi semelhante à concentração inicial (tabela 4.4), o que se pressupôs, que nos cristais a quantidade existente era mínima. Só nas amostras A-6 e A-11 é que foi possível quantificar, sendo o valor obtido ligeiramente acima do LQ do método.

Relativamente às restantes amostras constatou-se que a quantidade de Ca nos vinhos A e B vai aumentando a medida que aumenta a quantidade de Ca adicionada, como era esperado. É de notar, que este aumento foi igual para os diferentes ensaios. A quantidade total de K obtida nos cristais foi muito semelhante entre cada ensaio, exceto para as amostras A-5 e A-10.

Relativamente aos ensaios 1/K, 2/K e 3/K, verificou-se que apresentavam uma concentração de Ca no vinho muito semelhante à concentração inicial. Nos respetivos cristais, não foi possível quantificar a quantidade de Ca existente, uma vez que, os valores obtidos eram inferiores ao LQ ( $3,35 \times 10^{-3}$  mg/g cristais).

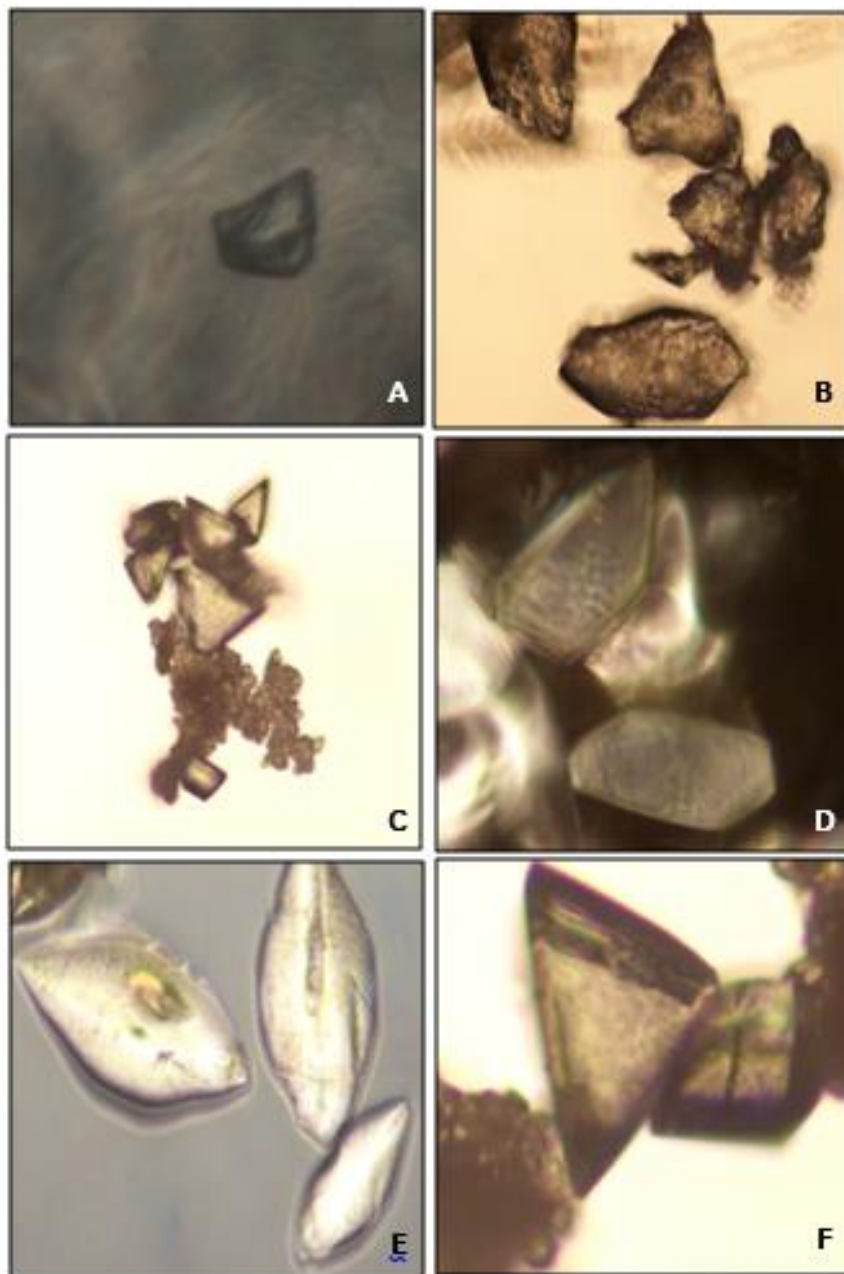
No gráfico 4.11, encontra-se representado a quantidade total de Ca obtido, em função da quantidade total de Ca esperada. A quantidade total de Ca apresentada resultou da soma da quantidade de Ca no vinho e nos cristais e a quantidade total de Ca esperada advinha da soma entre a quantidade de Ca já existente no vinho com aquela que foi adicionada. Como se pode verificar através do gráfico 4.11, a relação entre estas duas variáveis demonstram um comportamento linear, excetuando as amostras A-5 e A-10. Estes dois pontos não são concordantes com as restantes amostras, devido a alteração no processo de digestão da amostra, em vez do procedimento de análise geral que só avaliou uma porção dos cristais. Assim, ocorreu uma provável contaminação devido à presença de vestígios de vinho no papel de filtro. As restantes diferenças verificadas, podem estar relacionadas com a lavagem dos cristais após filtração. Esta deveria ter sido efetuada com uma solução hidroalcoólica a 20 % (V/V) e não com água desionizada, uma vez que, os cristais são mais solúveis em água desionizada.



**Figura 4.11** - Valores da quantidade total de Ca (vinho e cristais), obtido em função da quantidade esperada nos vinhos A e B.

#### 4.4. Observação ao microscópio

Na figura 4.12 encontra-se representado as observações ao microscópio ótico dos depósitos precipitados nos ensaios de algumas garrafas.



**Figura 4.12** – Observações microscópicas de depósitos precipitados. A, B e D – hidrogenotartarato de potássio (B-5, B-10 e B-19) e C, E e F – tartarato de cálcio (B-15, B-23 e B-27).

Nas fotografias, encontrou-se representado observações microscópicas que mostram a forma cristalina do hidrogenotartarato de potássio e do tartarato de cálcio em algumas

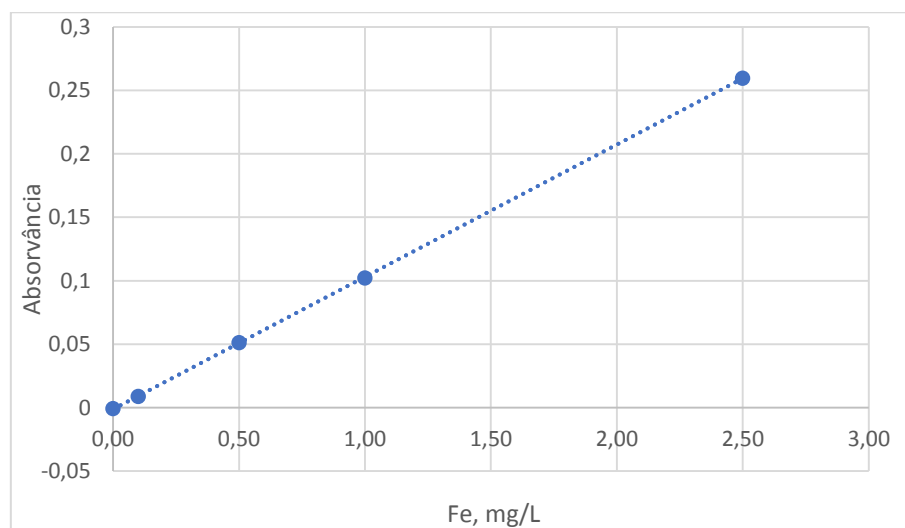
amostras. As figuras A, B, C, D, E e F, dizem respeito às amostras B-5, B-10, B-15, B-19, B-23 e B-27, respetivamente. Os cristais visualizados nas imagens A, B e D, dizem respeito ao hidrogenotartarato de potássio, uma vez que, estes apresentavam-se sob a forma de prisma retangular e diamante. Os cristais observados nas imagens C, E e F, apresentavam a forma de prisma e losango, logo diz respeito a cristais de tartarato de cálcio.

#### 4.5. Método colorimétrico

O método colorimétrico é um método alternativo à EAA. Utilizou-se um kit colorimétrico para a determinação de Fe, de forma a comparar os resultados obtidos entre estes dois métodos. O kit colorimétrico apresenta inúmeras vantagens: precisão dos resultados, velocidade, fácil manuseio, resposta rápida, custos associados à análise mais baratos quando comparado com a EAA e necessita de pouco volume de amostra para efetuar a análise. No entanto o tempo de reação é um parâmetro muito preciso, de modo a obter resultados credíveis.

É de salientar, que iniciaram-se testes para a determinação de Cu, Ca e K através de kits colorimétricos e enzimáticos. No entanto, ainda não se obteve resultados conclusivos.

Os resultados da curva de calibração do Fe obtida por EAA estão representados na figura 4.13 e na tabela 4.13.



**Figura 4.13** - Curva de calibração para o Fe por EAA.

**Tabela 4.13** - Parâmetros experimentais da curva de calibração do Fe por EAA.

Elemento	Ferro
Intervalo de concentrações	0,100 – 2,50 mg/L
Intervalo de absorvâncias	0,0088 – 0,2597
Tipo de ajuste	Linear
a	0,1043
b	0,0121
R <sup>2</sup>	1,0000
LD	0,18 mg/L
LQ	0,60 mg/L

Os resultados obtidos pelo método colorimétrico, foram determinados através da equação 3.1 apresentada no ponto 3.6.2. O limite de linearidade e de deteção esta apresentado na tabela 4.14.

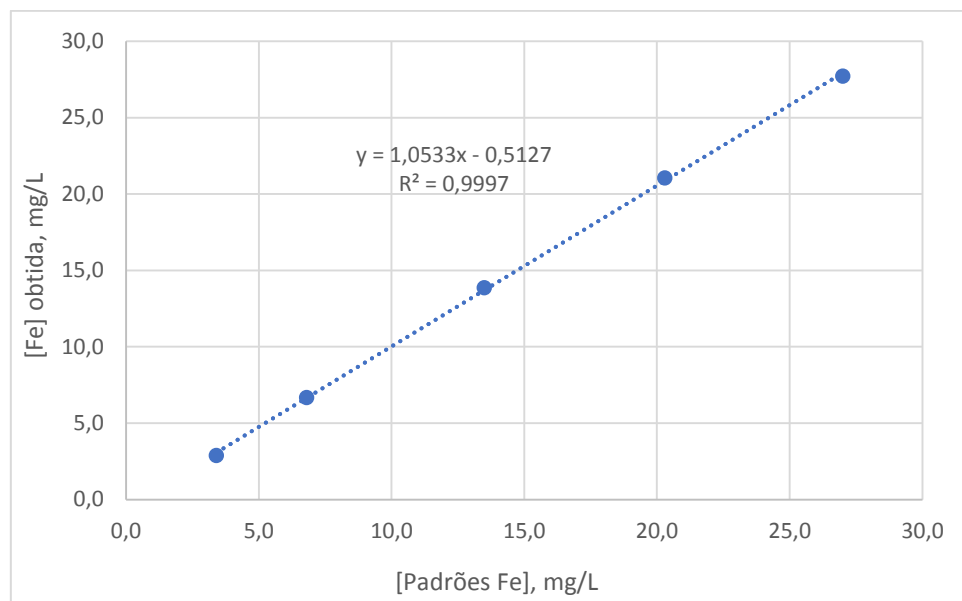
**Tabela 4.14** – Limite de linearidade e de deteção do método colorimétrico para determinação de Fe.

Limite de linearidade	30 mg/L
Limite de deteção	0,1 mg/L

Na tabela 4.15 estão apresentados a média e o desvio-padrão dos resultados obtidos para os cinco ensaios de linearidade. Observando os resultados, verificou-se que os mesmos estão concordantes face à concentração dos padrões preparados. Desta forma, este método é linear, como demonstrado no gráfico 4.14.

**Tabela 4.15** - Resultados obtidos da concentração de Fe, para os ensaios de linearidade.

Padrões de Ferro (mg/L)	Concentração de Ferro obtida (mg/L)	Erro relativo (%)
<b>3,40</b>	2,90 ± 0,14	15,0
<b>6,80</b>	6,70 ± 0,32	1,6
<b>13,50</b>	13,90 ± 0,91	2,7
<b>20,30</b>	21,10 ± 1,17	3,7
<b>27,00</b>	27,70 ± 1,10	2,7



**Figura 4.14** - Resultados obtidos da concentração de Fe em função de determinados padrões de Fe para os ensaios de linearidade.

Na tabela 4.16 encontram-se representados os resultados obtidos da concentração de Fe pelo método colorimétrico (Kit) comparativamente aos resultados obtidos pela EAA e pelo IVDP.

**Tabela 4.16** – Resultados obtidos da concentração de Fe pelo Kit, pela EAA e pelo IVDP.

Amostra	[Fe] Kit (mg/L)	[Fe] EAA (mg/L)	[Fe] IVDP (mg/L)	Desvio relativo à EAA (%)	Desvio relativo ao IVDP (%)
V1	1,09	1,10	1,20	0,9	9,2
V2	2,20	2,56	2,60	14,1	15,4
V3	1,98	2,39	2,20	17,2	10,0

Tendencialmente, verificou-se que os valores obtidos pelo método colorimétrico são menores do que os valores obtidos pela EAA e pelo IVDP. Os desvios entre os métodos são aceitáveis, uma vez que, são métodos muito distintos.

É de salientar, que os resultados do IVDP são obtidos pelo método de referência de espectrofotometria de absorção atômica com atomização por chama.



## Capítulo 5- Conclusões e sugestões para trabalho futuro

Durante os processos de vinificação, estágio e mesmo depois de engarrafados, ocorrem precipitações tartáricas. Apesar de ser um acontecimento natural, quando estas precipitações ocorrem no produto engarrafado, são vistas como um fator negativo pelo consumidor.

Os objetivos principais deste trabalho foi estudar a relação da quantidade de precipitado no Vinho do Porto tawny velho com o teor de metais (Mg, Na, K e Ca) e o efeito da goma arábica (supergum), ao longo do tempo. Tendo permitido concluir, através do teste do frio, que todas as amostras foram instáveis. Pelo teste do mini-contacto, com a adição de cálcio e potássio, a queda da condutividade obtida foi muito superior ao valor limite para a estabilidade tartárica

Em relação, aos resultados obtidos na análise dos metais, permitiram concluir que a presença de Magnésio e Sódio nos cristais precipitados não era significativa, no entanto, verificou-se uma tendência linear de cristais precipitados, face à quantidade de cálcio e potássio adicionado. Nestes testes, constatou-se que o ensaio a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  favoreceu o processo de cristalização e que a adição de goma arábica melhorou a estabilidade, no entanto, não inibiu o aparecimento de cristais no fundo das garrafas.

Na observação ao microscópio ótico, observou-se nas diversas amostras a presença de cristais com a forma do hidrogenotartarato de potássio e do tartarato de cálcio.

No caso do estudo do método colorimétrico, verificou-se que a resposta era linear, rápida e com resultados precisos comparativamente com a EAA por chama.

Em suma, ao longo do tempo, é expectável o aparecimento de cristais precipitados, devido ao tartarato em excesso, que precipita mediante a elevada concentração de cálcio e de potássio na solução ( $>Kps$ ).

Para trabalhos futuros, dar-se-á continuidade aos estudos dos métodos colorimétricos para determinação de cobre, magnésio e cálcio e do método enzimático para quantificação de potássio nos vinhos do Porto.

Os resultados obtidos na realização deste trabalho, podem ser valorizados através de uma posterior investigação/estudo sobre diversos pontos que não foram abordados, tais como:

- Realização dos mesmos testes, mas com temperaturas mais baixas e maior tempo de estágio, de modo a estudar a estabilização do tartarato de cálcio;
- Adição de cálcio e potássio na mesma amostra;

- Estudo do rácio entre a quantidade de potássio e cálcio precipitada nas amostras, de forma a perceber qual o limite máximo destes metais em solução, de modo a não levar a precipitação sob a forma de tartaratos.

## Capítulo 6- Bibliografia

- [1] “Symington Family Estates” [Online]. Available: <https://pt.symington.com/>. [Accessed: 03-Dec-2018].
- [2] “Instituto do Vinho do Porto e Douro” [Online]. Available: <https://www.ivdp.pt/>. [Accessed: 04-Dec-2018].
- [3] T. Ross, “Vinho & Vida,” 2015. [Online]. Available: <http://vidaevinho.com/processo-de-producao-do-vinho-2/>[Accessed: 04-Dec-2018].
- [4] “Como é feito o Vinho do Porto?” [Online]. Available: <https://www.taylor.pt/pt>. [Accessed: 08-Dec-2018]
- [5] R. Mateus da Cruz, 2018. "Estudo da influência das aguardentes na qualidade do Vinho do Porto. Interação entre os compostos fenólicos do vinho e os aldeídos das aguardentes.," Tese de Mestrado em Viticultura e Enologia. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. 85 pp.
- [6] “Sogrape, Vinhos Portugal" [Online]. Available: <https://www.sograpevinhos.com/> [Accessed: 30-Mar-2019].
- [7] A. S. Curvelo-Garcia and P. Barros, 2015. *Química Enológica - métodos analíticos*, 2nd ed. Porto: Publindústria, Edições Técnicas, LDA.
- [8] M. J. Andrade, 2012. “Estabilização tartárica de vinhos tintos por combinação de nanofiltração e permuta catiónica,” Tese de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Vinho. Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa. 76 pp.
- [9] C. Aguiar. " Transporte nas plantas".2008. [Online]. Available: <https://pt.slideshare.net/dianasousa/b-211transporte-plantas> [Accessed: 30-Mar-2019]
- [10] A. dos S. Cruz, 2014. “Estabilização tartárica de vinhos com resinas de troca catiónica,” Tese de Mestrado em Química. Universidade de Aveiro. 103 pp.
- [11] “BioSystems.” [Online]. Available: <https://www.biosystems-sa.com/>. [Accessed: 22-Jun-2019]
- [12] P. Cameira, A. Vilela, 2017. “Estabilização tartárica de vinhos : estudo comparativo da eletrodialise e do tratamento pelo frio.,” Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária.
- [13] M. Simões, 2014 “Estabilização tartárica em vinhos,” Tese de Mestrado em Viticultura e Enologia. Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia.
- [14] S. Catarino and A. Curvelo-Garcia, “Composição mineral do vinho – ocorrência de metais contaminantes.,” *OIV Congr.*, no. November, 2011.

- [15] “Ácidos polipróticos e bases polipróticas.” [Online]. Available: <http://www.fq.pt/acido-base/acidopoliproticos-e-bases-poliproticas>. [Accessed: 14-Jan-2019]
- [16] R. Gayon, Y. Glories, A. Maujean, and D. Dubourdieu, 2006. *Handbook of Enology - The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, 2nd ed., vol. 2. Nova Iorque: John Wiley & Sons, Ltd.
- [17] L. L. Low, 2007. “Evaluation of Tartrate Stabilisation Technologies for Wine Industry,” The University of Adelaide - School of Chemical Engineering, Austrália. 242 pp.
- [18] M. D. A. Nunes, 2011. “A electrodiálise na estabilidade tartárica dos vinhos: comparação com o método clássico,” Tese de Mestrado em Viticultura e Enologia. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa. 105 pp.
- [19] J. M. Ricardo da Silva, I. Sousa, and O. Laureano, 2003. “Factores condicionantes dos processos de vinificação e conservação na cor de vinhos portugueses,”. Universidade Técnica de Lisboa.
- [20] T. J. Lopes, M. F. Xavier, M. G. N. Quadri, and M. B. Quadri, 2007. “Antocianinas: Uma Breve Revisão Das Características Estruturais E Da Estabilidade,” vol. 13, no. 3, pp. 291–297.
- [21] J. P. S. Dias, “Instabilidade Físico-Química dos Vinhos,” Estação Vitivinícola da Bairrada, 2012.
- [22] T. Isabel and M. Ribeiro, 2012. “Estabilização proteica de vinhos: avaliação de alternativas para minimizar a aplicação de bentonite,” Tese de Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar. Instituto Politécnico de Bragança - Escola Superior Agrária.
- [23] R. Bauer and F. Bauer, 2008. *FTIR Spectroscopy for grape and wine analysis*,. American Chemical Society, 1372-1378 pp.
- [24] J. L. Moreira and L. Santos, 2005. “Analysis of organic acids in wines by Fourier-transform infrared spectroscopy,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 382, 421–425 pp.
- [25] A. L. Waterhouse, G. L. Sacks, and David W. Jeffery, 2016. *Understanding Wine Chemistry*.
- [26] “The Australian Wine Research Institute.” [Online]. Available: [https://www.awri.com.au/industry\\_support/winemaking\\_resources/fining-stabilities/hazes\\_and\\_deposits/potassium\\_instability/](https://www.awri.com.au/industry_support/winemaking_resources/fining-stabilities/hazes_and_deposits/potassium_instability/). [Accessed: 21-Maio-2019]
- [27] “Ângelo Coimbra.” [Online]. Available: <http://angelocoimbra.pt/>. [Accessed: 22-Jun-2019]
- [28] “Grupo I.L.C. - delta acque.” [Online]. Available: [http://www.ilc.pt/essential\\_grid/delta-acque/](http://www.ilc.pt/essential_grid/delta-acque/). [Accessed: 12-Jan-2019]

- [29] F. Rogerson, 2018. Relatório Symington "Projeto SIFIDE"
- [30] "FOSS." [Online]. Available: <https://www.fossanalytics.com/en/products/winescan>. [Accessed: 16-Fev-2019]
- [31] "ThermoFisherScientific." [Online]. Available: <https://corporate.thermofisher.com/en/home.html>. [Accessed: 16-Fev-2019]
- [32] "BioTek." [Online]. Available: <https://www.biotek.pt/pt/about/>. [Accessed: 22-Jun-2019]



## Anexos

### Anexo A – Medições das condutividades no momento inicial

Na tabela A.1 encontra-se representado as condutividades obtidas para o teste do mini-contacto no momento da adição das soluções de CaCl<sub>2</sub> e KCl.

**Tabela A.1** - Valores obtidos da condutividade,  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , para o ensaio do mini-contacto no momento inicial.

Código da amostra	Condutividade Inicial		Condutividade Final		Variação da condutividade		Observações
	Vinho A	Vinho B	Vinho A	Vinho B	Vinho A	Vinho B	
1	738,1	827,1	700,2	774,2	37,9	52,9	Ensaio em branco
6	737,1	827,1	701,2	774,2	36,3	51,1	
11	735,0	830,4	711,2	795,7	23,8	34,7	
2	790,5	877,4	764,2	832,7	26,3	44,7	Ensaio 1/Ca (Tamb.)
3	833,6	924,3	807,5	878,7	26,1	45,6	
4	928,2	1017,6	903,4	977,8	24,8	39,8	
5	1115,1	1212,4	1091,1	1182,2	24,0	30,2	
7	788,5	877,4	764,2	832,7	24,8	46,2	Ensaio 2/Ca (- 4 °C)
8	833,6	924,3	807,5	878,7	25,3	47,1	
9	928,2	1017,6	903,4	977,8	24,9	38,4	
10	1115,1	1212,4	1091,1	1182,2	22,7	28,4	
12	791,7	876,9	772	848,4	19,7	28,5	Ensaio 3/Ca (- 4 °C; goma arábica)
13	837,4	927,7	814,8	902,6	22,6	25,1	
14	934,6	1014,1	913,6	988,5	21,0	25,6	
15	1127,4	1239,4	1105,8	1211,9	21,6	27,5	
16	1060,9	1153,8	1021,3	1101,9	39,6	51,9	Ensaio 1/K (Tamb.)
17	1383,2	1478,9	1337,8	1408,1	45,4	70,8	
18	2011,9	2121,5	1951,1	2040,6	60,8	80,9	
19	-	-	-	-	-	-	
20	1060,9	1153,8	1021,3	1101,9	38,2	51,9	Ensaio 2/K (- 4 °C)
21	1383,2	1478,9	1337,8	1408,1	42,9	70,8	
22	2011,9	2121,5	1951,1	2040,6	58,9	80,9	
23	-	-	-	-	-	-	
24	1067,2	1165,7	1032,8	1131,2	34,4	34,5	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
25	1377,3	1476,0	1343,2	1436,4	34,1	39,6	
26	2023,0	2105,2	1973,7	2045,3	49,3	59,9	
27	-	-	-	-	-	-	

## Anexo B – Medições das condutividades após 6 meses de estágio

Na tabela B.1 encontra-se representado as condutividades obtidas para o teste do mini-contacto após 6 meses de estágio.

Tabela B.1 - Valores obtidos da condutividade,  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , para o ensaio do mini-contacto após 6 meses de estágio.

Código da amostra	Condutividade Inicial		Condutividade Final		Variação da condutividade		Observações
	Vinho A	Vinho B	Vinho A	Vinho B	Vinho A	Vinho B	
1	738,2	838,4	699,6	788,1	38,6	50,3	Ensaio em branco
6	748,9	822,4	712,5	786,4	36,4	36,0	
11	747,5	838,5	723,4	815,9	24,1	22,6	
2	789,5	885,9	754,9	835,2	34,6	50,7	Ensaio 1/Ca (Tamb.)
3	840,3	935,7	811,0	885,3	29,3	50,4	
4	934,5	1034,1	905,9	994,6	28,6	39,5	
5	1143,3	1211,6	1118,2	1175,8	25,1	35,8	Ensaio 2/Ca (- 4 °C)
7	796,9	874,8	771,3	839,0	25,6	35,8	
8	842,6	931,7	812,1	895,9	30,5	35,8	
9	930,6	1034,9	902,1	994,7	28,5	40,2	Ensaio 3/Ca (- 4 °C; goma arábica)
10	1140,7	1240,0	1116,1	1204,8	24,6	35,2	
12	798,9	889,9	779,2	859,9	19,7	30,0	
13	840,2	941,0	816,4	911,7	23,8	29,3	Ensaio 1/K (Tamb.)
14	941,9	1041,4	923,1	1011,1	18,8	30,3	
15	1148,5	1231,8	1124,3	1203,1	24,2	28,7	
16	1064,4	1165,6	1017,5	1093,9	46,9	71,7	Ensaio 2/K (- 4 °C)
17	1370,5	1472,4	1309,1	1393,7	61,4	78,7	
18	2021,1	2100,7	1946,2	2003,1	74,9	97,6	
19	-	-	-	-	-	-	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
20	1045,0	1116,5	1010,1	1081,3	34,9	35,2	
21	1337,3	1422,3	1307,8	1385,8	29,5	36,5	
22	1945,2	2023,3	1907,7	1981,1	37,5	42,2	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
23	-	-	-	-	-	-	
24	1028,7	1115,0	995,4	1087,4	33,3	27,6	
25	1339,5	1413,0	1315,8	1383,0	23,7	30,0	Ensaio 3/K (- 4 °C; goma arábica)
26	1967,0	2034,4	1930,0	1991,2	37,0	43,2	
27	-	-	-	-	-	-	

## Anexo C – Determinação do limite de deteção e de quantificação dos cristais analisados

Para a determinação do limite de deteção e de quantificação dos cristais analisados, teve-se em conta a maior toma de cristal obtida, por exemplo, para o Mg foi de 1,2904 g e para um volume de digestão de 10 mL.

$$LD = \frac{LD \text{ vinho} \times 0,010}{m_T} \quad (\text{C.1})$$

$$LQ = \frac{LQ \text{ vinho} \times 0,010}{m_T} \quad (\text{C.2})$$

*LD vinho – Limite de deteção do vinho (mg/L)*

*m<sub>T</sub> – Toma máxima de massa pesada (g)*

*LQ vinho – Limite de quantificação do vinho (mg/L)*