



Preparação e caracterização de diferentes soluções de Carboximetilcelulose (CMC): Efeito na estabilidade tartárica do vinho

ANA RITA NUNES BESSA

novembro de 2017

INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DO PORTO

MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

RAMO ENERGIA E BIORREFINARIA



Orientação:
Co-Orientação:



“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

Agradecimentos

Existem ocasiões que devemos reconhecer e agradecer todo o apoio e carinho que os outros nos prestam. Por essa razão, quero manifestar a minha gratidão e reconhecimento àqueles que de alguma maneira me ajudaram a realizar esta dissertação de Mestrado.

Ao Engenheiro Luís Filipe Ribeiro e ao Doutor João Silva, agradeço-lhes a oportunidade de realizar a minha dissertação na SAI, Lda e por todas as sugestões que contribuíram para uma melhoria do meu trabalho.

Ao Engenheiro Luís Filipe Ribeiro, também lhe devo agradecer, por toda a orientação, paciência, disponibilidade, compreensão e por todos os conhecimentos que me transmitiu ao longo deste tempo.

Ao Doutor Jorge Garrido, meu coorientador, agradeço a sua disponibilidade para me ajudar a desempenhar algumas tarefas e solucionar dúvidas, por todas as sugestões de melhoria e por todo o acompanhamento prestado durante este período de tempo.

Agradeço também ao Doutor António Alfredo Crispim, Diretor do mestrado em Engenharia Química todo o auxílio e encorajamento prestados durante este período.

Ao Engenheiro Nuno Grosso, quero agradecer todo o apoio, todos os conhecimentos que me transmitiu, e toda a ajuda que me deu a desempenhar todo o trabalho laboratorial.

A todos os funcionários da SAI, Lda, que me acolheram de uma forma excepcional e colaboraram para a realização deste trabalho, contribuindo para o meu sucesso, o meu sincero obrigada.

À minha família, especialmente aos meus pais e irmã, 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 cinco anos do meu percurso académico. Em especial, à Ariana Neves, Mariana Ferreira e Marlene Teixeira. A vocês devo agradecer todo o apoio, força, carinho e partilha. Obrigada pela vossa presença quer nos bons como nos maus momentos.

O meu enorme e sincero obrigada a todos vocês que contribuíram e acreditam em mim.

Resumo

A estabilidade físico-química de um vinho, como a estabilidade tartárica, são fatores fundamentais para a aceitabilidade desta bebida no mercado, face aos requisitos dos consumidores atuais. Os fenómenos de precipitação tartárica ocorrem de forma natural e imprevisível, tornando-se imprescindível avaliar este tipo de instabilidade no processo de produção dos vinhos.

A autorização da adição da carboximetilcelulose (CMC) ao vinho, desde 2009 ((UE) 606/2009), veio disponibilizar uma nova forma de se estabilizar o vinho a nível tartárico. Este polímero é caracterizado essencialmente pelo seu peso molecular e grau de substituição, parâmetros que afetam diretamente a sua solubilidade em água.

O principal objetivo do projeto realizado, foi a preparação de soluções aquosas de diferentes tipos de CMC de forma a verificar qual o intervalo de peso molecular e grau de substituição mais indicado para preparar misturas de carboximetilcelulose com goma arábica, com o propósito de permitir a estabilização tartárica de diferentes vinhos.

O CMC testado (CMC_b) com um grau de substituição de 0,77 e peso molecular de 20 kDa, foi o único que permitiu a preparação de misturas de CMC com goma arábica, do tipo *Seyal* ou *Verek*.

Através dos ensaios realizados pode verificar-se ainda, que o CMC_b demonstrou poder estabilizante a nível tartárico tanto na forma elementar (CMC), como em diferentes misturas (GA + CMC), quando aplicado em vinhos tintos, brancos e rosados.

Palavras chave: Vinho, estabilidade tartárica, carboximetilcelulose, goma arábica.

Abstract

The physical-chemical stability of a wine, such as tartaric stability, are fundamental factors for the acceptability of this drink in the market, face to the requirements of the current consumers. The phenomena of tartaric precipitation occur naturally and unpredictably, becoming crucial to evaluate this type of instability in the wine production process.

The authorization of the addition of carboxymethylcellulose (CMC) to the wine, since 2009 ((EU) 606/2009), provided a new way to stabilize the wine at a tartaric level. This polymer is characterized essentially by his molecular weight and degree of substitution, parameters that directly affect his solubility in water.

The main objective of the project was the preparation of aqueous solutions of different types of CMC, with the purpose of verifying which molecular weight range and degree of substitution is the most suited to prepare mixtures of carboxymethylcellulose with arabic gum, in order to allow the stabilization of different wines.

The tested CMC (CMCb) which shows a substitution degree of 0.77 and molecular weight of 20 kDa was the only one, that allowed the preparation of CMC mixtures with arabic gum, Seyal or Verek type.

Through the tests carried out it can be verified that the CMCb has a stabilizing power at a tartaric level, either in elemental form (CMC) or in different mixtures (GA+CMC), when applied in red, white and rose wines.

Keywords: Wine, tartaric stability, carboxymethylcellulose, arabic gum.

Índice Geral

Capítulo 1 . Introdução.....	1
1.1 Enquadramento.....	1
1.2 Objetivo	1
1.3 Apresentação da Empresa	1
Capítulo 2 . Estado de arte.....	3
2.1 Importância do sector vitivinícola Português.....	3
2.2 Produção de Vinho	6
2.2.1 Produção de Vinho Branco	7
2.2.2 Produção de Vinho Tinto.....	8
2.2.3 Produção de Vinho Rosé	9
2.3 Constituição do vinho	10
2.3.1 Ácidos no vinho (ácido tartárico e málico)	10
2.3.2 Minerais no Vinho	10
Capítulo 3 . Instabilidade no Vinho.....	13
3.1 Precipitação tartárica.....	13
3.1.1 Fatores que influenciam a precipitação tartárica	15
3.2 Instabilidade proteica.....	17
3.3 Instabilidade corante	18
Capítulo 4 . Testes para Avaliação da Estabilidade Tartárica.....	19
4.1 Teste de permanência no frio	19
4.2 Teste do mini-contacto	19
4.3 Teste do Würdig	20
Capítulo 5 . Tratamentos para estabilização tartárica de vinhos	23
5.1 Métodos físicos.....	23
5.1.1 Estabilização por frio.....	23
5.1.2 Resinas de permuta iónica.....	25
5.1.3 Eletrodialise	26
5.2 Métodos químicos	27

5.2.1	Ácido metatartárico	27
5.2.2	Goma arábica	28
5.2.3	Manoproteínas	29
5.2.4	Carboximetilcelulose (CMC).....	30
Capítulo 6 . Materiais e Métodos.....		33
6.1	Reagentes e material.....	33
6.1.1	Goma Arábica	33
6.1.2	Carboximetilcelulose (CMC).....	34
6.1.3	Tipo de vinhos.....	34
6.2	Determinações analíticas	35
6.2.1	Determinação do peso molecular	35
6.2.2	Determinação do grau de substituição do CMC	36
6.2.3	Análise sumária dos vinhos.....	37
6.2.4	Avaliação da estabilidade tartárica	38
6.2.5	Avaliação da estabilidade proteica	39
6.2.6	Avaliação da estabilidade corante.....	40
6.2.7	Determinação das características cromáticas e do teor de polifenóis totais	40
6.3	Tratamento estatístico.....	40
Capítulo 7 . Resultados e Discussão.....		41
7.1.	Caracterização das misturas de polissacarídeos	41
7.2	Caracterização dos diferentes tipos de CMC	43
7.3	Caracterização físico-química dos vinhos.....	44
7.4	Perfil da estabilidade dos vinhos	45
7.4.1	Estabilidade tartárica.....	46
7.4.2	Estabilidade proteica.....	50
7.4.3	Estabilidade corante.....	53
7.5.	Componentes da cor	54
7.5.1	Intensidade da cor.....	55

7.5.2 Tonalidade	55
7.5.3 Índice de polifenóis totais	56
Capítulo 8 . Conclusões	57
Referências.....	59
Anexo A - Determinação do peso molecular	63
Anexo B - Determinação do grau de substituição do CMC.....	67
Anexo C - Determinação da análise sumária dos vinhos	69
Anexo D - Determinação das características cromáticas	71

Índice de Figuras

Figura 2.1. Produção Mundial de Vinho em 2016 [3].	3
Figura 2.2. Distribuição da produção de vinho em Portugal [5].	4
Figura 2.3. Maiores consumidores mundiais de vinho em 2015 [6].	5
Figura 2.4. Representação esquemática do processo de produção de vinho branco [11].	8
Figura 2.5. Representação esquemática do processo de produção de Vinho Tinto [11].	9
Figura 3.1. Estrutura química do ácido tartárico, H_2T (A), e suas formas ionizadas, ião bitartarato, HT^- (B) e ião tartarato, T^{2-} (C) [16].	13
Figura 3.2. Comportamento do ácido tartárico e das suas formas ionizadas em função do pH, para uma solução aquosa [16].	16
Figura 3.3. Efeito da estabilização corante em vinho tinto, recorrendo a uma testemunha (A) e a uma amostra com adição de goma arábica(B) [20].	18
Figura 4.1. Modelo de um gráfico adquirido na determinação da condutividade de duas amostras, com e sem adição de bitartarato de potássio, em função da temperatura. (Adaptado [16]).	20
Figura 5.1. Bomba de alimentação; 3- Permutador de calor; 4- Refrigerador; 5- Cristalizador; 6-Extração de tartarato (purga); 7-Vortéx; 8-Filtro; 9-déposito de vinho tratado [21].	25
Figura 5.2. Diagrama representativo do principio da eletrodialise [24].	26
Figura 5.3. Mecanismos de intervenção dos polissacarídeos para prevenir a floculação dos fragmentos coloidais. 1-Oclusão dos polímeros, 2- ligações covalentes, 3- isolamento dos polímeros [26].	29
Figura 5.4. Representação esquemática da estrutura molecular do CMC [30].	30
Figura 6.1. Equipamento Bacchus μ , instalado no laboratório da SAI.	37
Figura 6.2. Equipamento tartarcheck, instalado no laboratório da SAI.	38
Figura 7.1. Resultados da estabilização tartárica pelo teste de mini-contacto para as amostras de vinho branco (V1, V2, V3 e V4).	48
Figura 7.2. Resultados da estabilização tartárica pelo teste de mini-contacto para amostras de vinho rosado (V5, V6 e V7).	48
Figura 7.3. Resultados da estabilização tartárica pelo teste de mini-contacto para as amostras de vinho tinto (V8, V9, V10 e V11).	50
Figura 7.4. Resultados da estabilização proteica pelo teste de calor, para as amostras de vinho branco (V1, V2, V3 e V4).	52

Figura 7.5. Resultados da estabilização proteica pelo teste de calor, para as amostras de vinho rosado (V5,V6 e V7).....	52
Figura A.1. Viscosidade reduzida e viscosidade inerente versus a concentração dos CMCs em estudo.....	64
Figura B.1. Cromatograma obtido para o CMC _b , absorbância versus tempo.....	67

Índice de tabelas

Tabela 3.1.Solubilidade dos sais tartáricos, a 20 °C [16].	15
Tabela 3.2.Valores de solubilidade do bitartarato de potássio, para soluções com 12 % de álcool, para diferentes temperaturas [16].	17
Tabela 6.1.Diferenciação das diferentes Gomas utilizadas no presente estudo.	33
Tabela 6.2. Diferenciação dos dois tipos de carboximetilcelulose em estudo.	34
Tabela 6.3. Determinação da estabilidade tartárica tendo em consideração os limites de diferença de condutividade para os diferentes vinhos.	39
Tabela 7.1.Características físico-químicas das diferentes misturas em estudo.	41
Tabela 7.2.Valores de turbidez medidos ao fim de 24h e espessura do filme formado.	42
Tabela 7.3. Valores de turbidez medidos ao fim de 20 dias e espessura do filme formado.	42
Tabela 7.4. Caracterização físico-química dos cinco CMCs utilizados neste estudo.	43
Tabela 7.5. Resultados da análise sumária dos vinhos testemunha.	45
Tabela 7.6. Valores da condutividade elétrica $\Delta C(\mu S/cm)$ para os vinhos brancos e rosados.	47
Tabela 7.7. Valores da condutividade elétrica $\Delta C(\mu S/cm)$ para vinho tintos.	49
Tabela 7.8.Valores da variação da turbidez, segundo o teste de calor, para vinhos brancos e rosados.	51
Tabela 7.9. Análise da existência de precipitados nas amostras de vinho tinto.	53
Tabela 7.10.Valores da intensidade da cor em vinhos tintos.	55
Tabela 7.11. Valores da tonalidade em vinhos tintos.	55
Tabela 7.12.Teor de polifenóis totais em vinhos tintos.	56
Tabela A.1. Dados e valores calculados para a determinação da viscosidade intrínseca.	64

Lista de Abreviaturas e Símbolos

A – Absorbância

C – Concentração (g/L)

CaT – Tartarato neutro de cálcio

CH₃COOH – Ácido acético

CMC – Carboximetilcelulose

FML – Fermentação malolática

FTIR – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

GA – Goma arábica

GP – Grau de polimerização

GS – Grau de substituição

HT – Ião bitartarato

HSO₃⁻ – Ião bissulfito

H₂T – Ácido tartárico

Int – Intensidade

IPT – Índice de polifenóis totais

IV – Infravermelho

I.V.V. – Instituto da Vinha e do Vinho

M – Molaridade (mol/L)

NaCl – Cloreto de sódio

NTU – Unidades nefelométricas de turbidez

OIV – Organização Internacional da Vinha e do Vinho

PM – Peso molecular

t – Tempo (s)

T – Testemunha

TAV – Grau alcoólico volúmico (%v/v)

THK – Bitartarato de potássio

Ton – Tonalidade

T_{sat} – Temperatura de saturação do vinho (°C)

T² – lã tartarato

V – Vinho

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 Energia e Biorrefinaria, do Departamento de Engenharia Química, no Instituto Superior de Engenharia do Porto. O desenvolvimento experimental deste projeto teve uma duração de aproximadamente 4 meses, com início a 3 de abril de 2017 e fim a 31 de julho, e foi desenvolvido na empresa SAI- Segurança Alimentar Integrada, LDA, sediada em Paredes, Portugal.

1.2 Objetivo

A presente dissertação tem como tema principal, a preparação e caracterização de diferentes soluções de carboximetilcelulose (CMC): Efeito na estabilidade tartárica do vinho e apresenta como principais objetivos:

- Compreender as interações, nomeadamente a floculação, e as reações que ocorrem em misturas de polissacarídeos;
- Caracterizar os polissacarídeos (grau de substituição, polimerização e peso molecular);
- Desenvolver uma mistura de goma arábica com carboximetilcelulose, tendo em vista, a sua utilização comercial para estabilização tartárica;
- Avaliar o poder estabilizante de misturas de CMC com goma arábica ao nível da estabilidade tartárica, proteica e de matéria corante, em vinhos brancos, tintos ou rosados.

1.3 Apresentação da Empresa

A SAI é uma empresa que iniciou a sua atividade em 2007, tendo como propósito investigar e produzir produtos enológicos, procedendo posteriormente à sua comercialização. Através da sua equipa técnica e laboratório, procede ao desenvolvimento e otimização de produtos e serviços na área de enologia, dando simultaneamente suporte técnico e analítico aos seus clientes.

A sua atividade engloba diversas áreas de conhecimento como a Enologia e Viticultura, Biotecnologia, Química, Microbiologia, Controlo de Qualidade, Gestão da

Qualidade e Segurança Alimentar, estando adaptada para ser um interlocutor de confiança para os seus clientes.

A SAI, conta ainda, com a colaboração de várias instituições, consultores e investigadores nacionais e internacionais, procurando assim, um desenvolvimento e uma melhoria contínua de produtos e serviços.

Foi na expectativa da necessidade da manutenção e qualidade dos seus produtos e serviços, para melhor satisfazer as necessidades dos seus clientes, que esta empresa desenvolveu o seu Sistema da Qualidade com base nos pressupostos da norma NP ISO 9001:2008, planeando uma melhoria contínua nos serviços concedidos aos seus utilizadores [1].

Capítulo 2 . Estado de arte

2.1 Importância do sector vitivinícola Português

O vinho é uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo, o que explica, o aumento continuado da sua produção, do número de países produtores, da qualidade e a diversidade de vinhos no mercado. O vinho português tem conseguido afirmar-se a nível internacional, por se distinguir, devido à variedade e particularidade das suas castas e dos seus *terroir*, associada a uma boa qualidade e relação qualidade-preço [2].

Mundialmente, no ano de 2016, foram produzidos cerca de 259 milhões de hectolitros de vinho, sendo a Itália o maior produtor de vinho com uma produção de 48,8 milhões de hectolitros. Portugal ocupa a 12ª posição enquanto país produtor de vinho a nível mundial com uma produção anual de cerca de 6 milhões de hectolitros.

Na figura 2.1, apresenta-se a produção Mundial de Vinho dos países produtores mais representativos durante o ano de 2016 [3].



Figura 2.1. Produção Mundial de Vinho em 2016 [3].

Embora no ano de 2016 se tenha verificado uma queda na produção mundial de vinho de 15 %, relativamente ao ano de 2015, constatou-se que, em Portugal, ao longo dos últimos anos tem havido uma melhoria a nível da qualidade do vinho produzido [3].

Em Portugal, existem variações climáticas consideráveis em diferentes regiões. Em termos vinícolas essas diferenças de temperaturas podem ser significativas, devido à influência que o clima exerce nas castas. Genericamente, podemos dividir as regiões vinícolas portuguesas em duas grandes regiões: o grupo das que sofrem uma influência moderada dos ventos marítimos (Vinhos verdes, Bairrada, Estremadura e Terras do Sado) e

o das regiões mais quentes (Douro, Dão, Trás-os-Montes, Beira Interior, Ribatejo, Alentejo e Algarve), porque a qualidade dos vinhos vai depender da região onde as vinhas se encontram [4].

Em Portugal, a região do Douro é a que produz mais vinho, seguindo-se o Alentejo e Lisboa. O Algarve é das zonas que apresenta uma percentagem pouco significativa na produção de vinhos [5].

Na figura 2.2, é apresentada a distribuição da produção de vinho por região em Portugal.

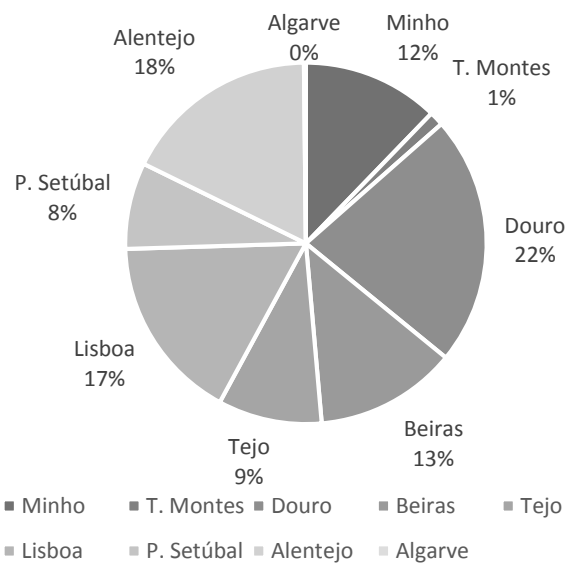


Figura 2.2. Distribuição da produção de vinho em Portugal [5].

Dados de 2015, mostram que Portugal é o 12º país onde se consome mais vinho no mundo, sendo os países com mais consumo de vinho os Estados Unidos, a França, Itália e a Alemanha [6].

A figura 2.3, ilustra os países com maior consumo de vinho em 2015.

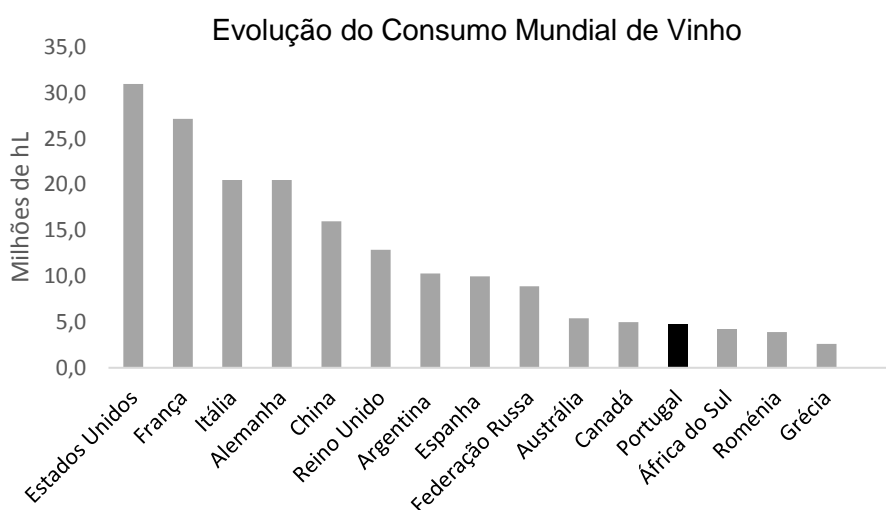


Figura 2.3. Maiores consumidores mundiais de vinho em 2015 [6].

Em 2016, a procura de vinho aumentou 0,4 % a nível mundial em relação a 2015, e constatou-se que os Estados Unidos, a França e Itália continuam a liderar o consumo de vinho per capita. No entanto, Portugal foi considerado o país com maiores consumidores desta bebida por habitante, com um consumo de 54 litros por pessoa/ano, seguindo-se a França com 51,8 litros [7].

O dinamismo no sector vinícola também é demonstrado através das exportações de vinho, que nos últimos anos, tiveram um desempenho muito positivo. Dados recentes dão conta, que 1,5 % do valor total das exportações nacionais de bens são asseguradas pelo vinho português e que 45% dos vinhos produzidos são exportados para países como o Brasil e os Estados Unidos. Neste campo Portugal ocupa a 9ª posição enquanto país exportador de vinho tendo vendido cerca de 2,8 milhões de hectolitros para o estrangeiro o que corresponde a um volume de negócios de cerca de 734 milhões de euros [7,8].

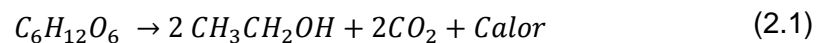
A nível de quantidade Espanha é o país que exportou um maior volume de vinho, cerca de 22,3 milhões de hectolitros, no entanto, como exporta a baixo preço só arrecadou cerca de 2.644 milhões de euros, um valor muito baixo comparativamente com a França que com as exportações alcançou 8.255 milhões de euros com um volume de 14,1 milhões de hectolitros no ano passado.

A quantidade de vinha a nível mundial, em 2016, manteve-se nos 7,5 milhões de hectares [7].

É reconhecido que ainda existe muita coisa a melhorar no mercado do vinho, mas os resultados dos últimos anos mostram que Portugal está num bom caminho e que tem um futuro promissor neste sector.

2.2 Produção de Vinho

Os açúcares presentes na polpa da uva são essencialmente a glucose e a frutose. Durante a fermentação alcoólica, as leveduras transformam estes açúcares em etanol e dióxido de carbono (entre muitos outros compostos), em proporções semelhantes, segundo uma reação exotérmica (equação 2.1).



Na etapa de fermentação, existe ainda, o aparecimento de outros produtos em quantidades menores, como o ácido acético, ácido láctico, glicerol, ácido succínico, outros álcoois e uma diversidade de compostos aromáticos.

O enólogo tem de controlar todo o processo de fermentação, uma vez que pretende obter vinhos equilibrados, com bom aroma e sabor e com o estilo pretendido em função do mercado alvo. Durante a fermentação alcoólica podem ocorrer vários problemas, como a paragem prematura da fermentação, enquanto o mosto ainda contem açúcares por fermentar, a degradação acética ou problemas de oxidação. A determinação da quantidade de açúcar no mosto e os açúcares redutores no vinho de fermentação é realizada recorrendo a um hidrómetro de densidade. Os métodos mais utilizados são o Baumé, Brix, Balling e Oechsle. Durante o processo de vinificação é importante fazer o controlo diário da densidade e temperatura [9].

As uvas podem ser de várias variedades e dividem-se em uvas de pele clara ou escura.

Na produção de vinhos tintos utilizam-se apenas peles de cor escura, que contêm antocianinas e taninos que durante a etapa de maceração conferem cor ao vinho tinto. Na produção de vinhos brancos é a ausência de contacto com a pele da uva na fermentação, e não a cor da uva que distingue a cor do vinho. O vinho branco pode, portanto, ser obtido através de uvas escuras, sendo importante apenas o suco branco presente na uva.

O vinho rosé é geralmente feito a partir de uvas tintas, cuja separação líquido-sólidos é muito rápida (segue a tecnologia de produção dos vinhos brancos) ficando pouco tempo em contacto com as películas, que vai conferir a sua cor levemente rosada [9,10].

Estes três tipos de vinhos distinguem-se pela qualidade das uvas, mas também pelo processo de vinificação que lhes dá origem.

2.2.1 Produção de Vinho Branco

O vinho branco apresenta uma cor dourada e um sabor frutado. Pode ser produzido através de uvas brancas e tintas (*Blanc de noir*), desde que o mosto seja separado o mais rapidamente possível da pele da uva, para evitar a passagem de matéria corante.

No processo de fabrico deste tipo de vinho as etapas mais importantes são:

Desengace e Esmagamento: nesta etapa, as uvas sofrem um processo para retirar o engaço (parte lenhosa do cacho) e um processo de esmagamento para fracionar a película da uva. A aplicação de dióxido de enxofre e enzimas também acontece nesta etapa o que vai proporcionar uma proteção antioxidante e antisséptica ao vinho.

Decantação do mosto: processo onde ocorre a deposição dos sólidos em suspensão, nomeadamente de partículas vegetais provenientes das uvas esmagadas e desengaçadas, que possam estar em suspensão, o que permite a obtenção de vinhos mais elegantes e límpidos, a nível do aroma e sabor. O parâmetro de controlo usado é a turbidez e a mesma após a clarificação do mosto deve estar entre 50 e 250 NTU.

Prensagem: é uma fase do processo que antecede a fermentação onde se pretende libertar o sumo, separando-o das películas e grainhas da uva. Nesta etapa extrai-se o mosto, porque na produção de vinho branco e rosados as películas da uva não ficam em contacto com o mosto durante a fermentação alcoólica.

Fermentação alcoólica: A etapa de fermentação ocorre naturalmente e consiste basicamente na transformação dos açúcares presentes na polpa da uva em etanol e dióxido de carbono, em proporções semelhantes. É um processo que acontece a uma temperatura inferior a 18°C, permitindo conservar os aromas característicos das uvas, e tem uma duração que varia entre 10 a 15 dias. Nesta etapa adiciona-se leveduras e nutrientes que permitem um processo mais completo, regular e com resultados previsíveis.

Trasfega: Operação de transferência para um novo recipiente, com precaução, com o objetivo de separar o vinho limpo do depósito ou borra [9,11].

Na figura 2.4, encontra-se representado um esquema sucinto das operações referentes à produção de vinho branco.

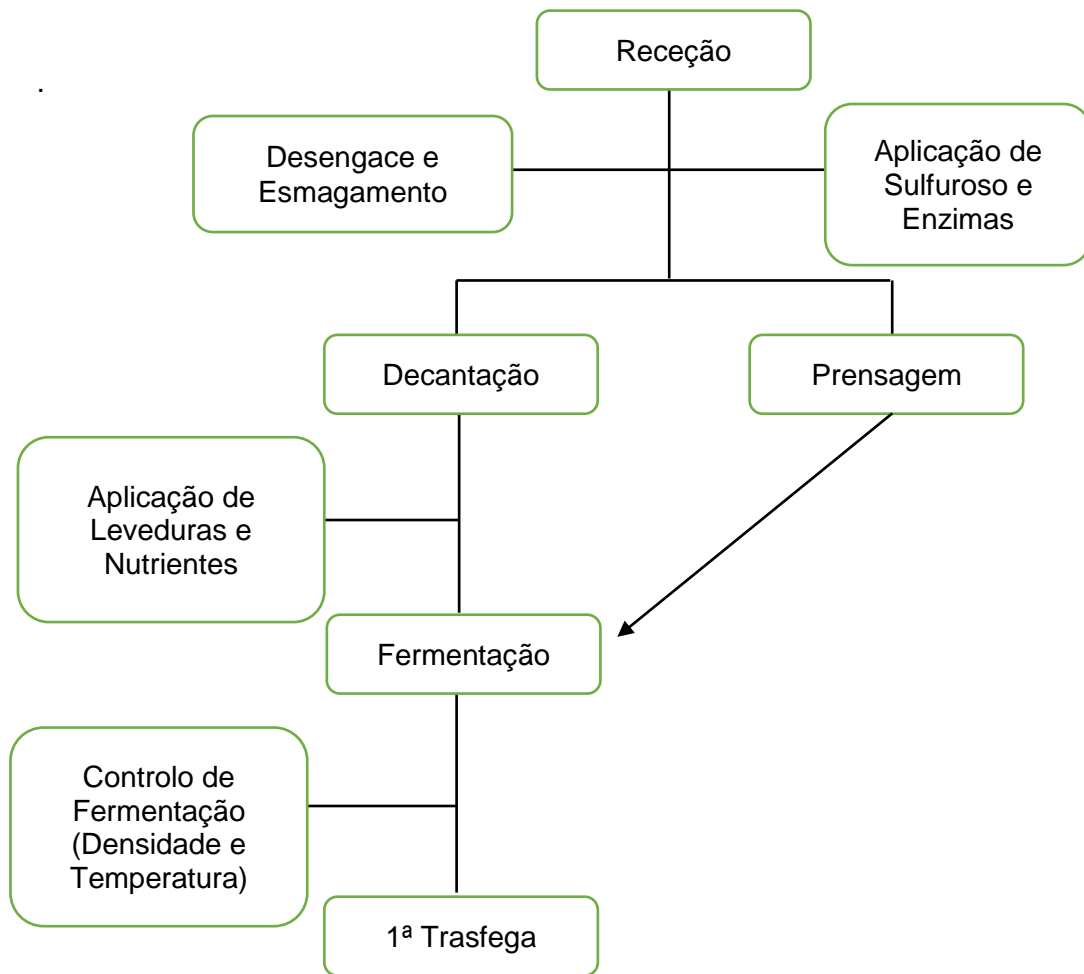


Figura 2.4. Representação esquemática do processo de produção de vinho branco [11].

2.2.2 Produção de Vinho Tinto

Inicialmente o processo de produção de vinho tinto é semelhante ao descrito anteriormente para o vinho branco. Após a receção das uvas tintas ocorre o desengace e o esmagamento, assim como, a adição de dióxido de enxofre e enzimas.

O que difere entre os dois processos é que antes da fermentação não ocorre decantação nem prensagem [11]. A fermentação do vinho tinto acontece com sólidos presentes na uva, para a cor ser extraída das películas. É um processo que ocorre com temperaturas de aproximadamente 20 / 25 °C ou superiores, com uma duração de 5 a 10 dias para vinhos correntes e cerca de 25 dias para vinhos mais elaborados [12].

A maceração ocorre juntamente com a fermentação e depende do estilo de vinho que se pretende, é uma etapa em que o vinho é deixado em contacto com as películas após a fermentação alcoólica até ter a cor, o sabor e a extração de taninos pretendida.

Estando a maceração concluída o vinho sofre uma prensagem, um controlo de fermentação malolática (FML), uma correção de sulfuroso e a 1ª trasfega [9, 11].

Na figura 2.5, encontra-se representado um esquema sucinto com as operações referentes à produção de vinho tinto.

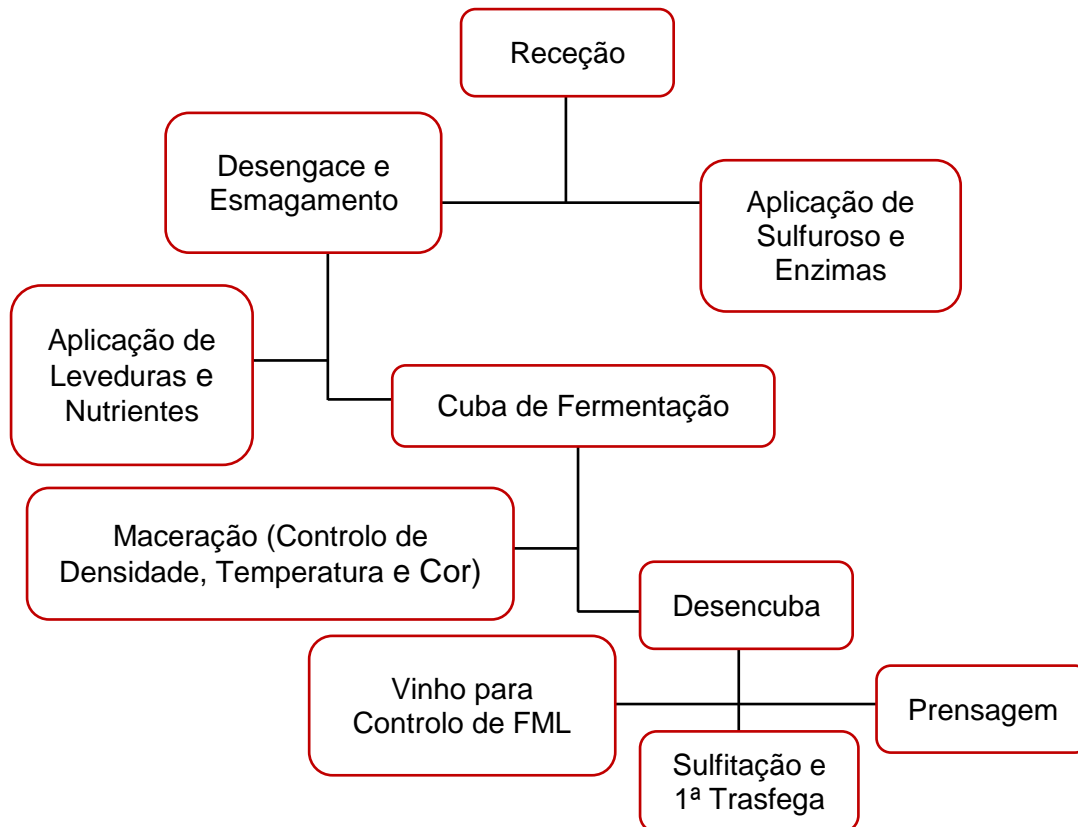


Figura 2.5. Representação esquemática do processo de produção de Vinho Tinto [11].

2.2.3 Produção de Vinho Rosé

Nos vinhos rosés, as uvas utilizadas normalmente são tintas como nos vinhos tintos, no entanto, o processo de produção deste tipo de vinho geralmente é muito semelhante ao da produção do vinho branco (figura 2.4), o que faz com que tenham características semelhantes.

O que difere nestas duas bebidas é o contacto com as películas da uva, o que confere ao vinho rosé uma tonalidade diferente e conseqüentemente outro sabor.

Normalmente, as uvas tintas, após serem colhidas, desengaçadas e esmagadas passam por uma prensagem. Nesta etapa o mosto já vai apresentar alguma cor e inicia-se a fermentação [2,13].

2.3 Constituição do vinho

2.3.1 Ácidos no vinho (ácido tartárico e málico)

Apesar de no vinho existirem vários ácidos, os mais importantes são os ácidos tartárico e o málico, que apesar da sua semelhança química, apresentam metabolismo e evoluções diferentes durante o desenvolvimento e maturação da uva.

A relação entre os dois ácidos varia relativamente à casta da uva e às condições de maturação. A proporção de ácido tartárico nas uvas varia pouco durante a etapa de maturação, ao contrário da proporção de ácido málico que diminui ao longo desta etapa.

No decorrer da fermentação o teor de ácido tartárico diminui em relação ao presente no mosto, devido à precipitação de tartaratos. O ácido málico pode desaparecer completamente do vinho, por descarboxilação em ácido láctico e dióxido de carbono, na fermentação malolática (FML) que pode ocorrer depois da fermentação alcoólica.

Estes constituintes apresentam um papel relevante no vinho, conferindo-lhe estabilidade e um sabor mais refrescante e saboroso.

Para além destes ácidos ainda se encontram presentes outros, como o acético e cítrico, em quantidades menores [14].

2.3.2 Minerais no Vinho

O principal mineral presente na polpa da uva é o potássio numa concentração máxima de 2000 mg/L. De entre os outros minerais os que estão presentes mais significativamente são o cálcio e o magnésio com uma concentração até 200 mg/L.

O potássio é um dos poucos minerais que são transportados pela seiva através do floema. O floema facilita o transporte de açúcares produzidos na fotossíntese. Na etapa de maturação da uva, existe uma relação direta entre o aumento da concentração de potássio na uva e a acumulação cinética de açúcar. Este mineral é o principal catião presente no vinho e encontra-se localizado essencialmente nos vacúolos das células celulósicas dos tecidos vegetais da cepa e nas células da película da uva [15]. Nos vinhos tintos a quantidade de potássio é superior à dos vinhos brancos, devido à fase de extração (na fase de maceração dos vinhos tintos) e à impossibilidade de precipitação pelos polifenóis [2]. A seiva do xilema transporta grande parte dos catiões tendo em conta a quantidade de água transpirada pela planta.

Relativamente ao cálcio, a sua acumulação termina no início da etapa de maturação [15]. Fenómeno semelhante ao que acontece com o magnésio, mas em menor grau.

Consequentemente, as concentrações de cálcio e magnésio vão diminuir durante a fase de maturação.

A quantidade de cálcio presente no vinho vai depender da quantidade veiculada pela uva, das operações tecnológicas e do armazenamento em depósitos mal revestidos. A sua quantidade no vinho varia de 30 a 200 mg/L. No entanto, é mais reativo que o potássio na precipitação e floculação de coloides por ser bivalente [15].

Capítulo 3 . Instabilidade no Vinho

O vinho devido à sua composição química complexa pode apresentar instabilidade físico-química, podendo ocorrer no vinho armazenado ou em produto acabado, alterações de turbidez e formação de depósitos indesejáveis.

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

3.1 Precipitação tartárica

As precipitações tartáricas ocorrem naturalmente nos vinhos e podem acontecer em várias fases do processo, como no decorrer da vinificação, estágio ou após o embalamento. Estes depósitos tartáricos são geralmente cristalinos e facilmente reconhecíveis. Quando acontecem depois do vinho ser embalado e chegam ao consumidor, este pode reclamar por achar que o vinho foi adulterado ou não está nas suas melhores condições, mas na realidade, quando presente em quantidades moderadas, a qualidade do vinho não é prejudicada [14,15].

Os principais sais presentes no vinho, que podem dar origem a precipitados, são o bitartarato de potássio ($KC_4H_5O_6$) e o tartarato neutro de cálcio ($CaC_4H_4O_6$), que são formados a partir da ionização do ácido tartárico. Estes dois compostos são normalmente abreviados como THK e CaT, respetivamente [16].

O ácido tartárico encontra-se parcialmente desprotonado (Figura 3.1).

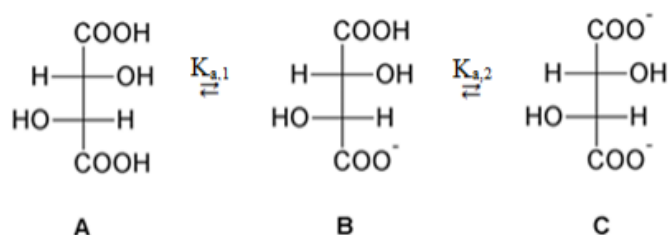
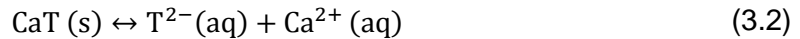
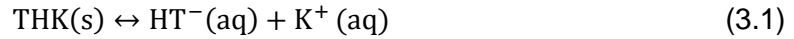


Figura 3.1. Estrutura química do ácido tartárico, H_2T (A), e suas formas ionizadas, íon bitartarato, HT^- (B) e íon tartarato, T^{2-} (C) [16].

Os íões bitartarato e tartarato (HT^- e T^{2-}), são responsáveis pela formação do bitartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio, que geram precipitações na garrafa, quando presentes em concentrações superiores à sua solubilidade. As reações apresentadas de seguida representam os equilíbrios de solubilidade dos dois sais, bitartarato de potássio (equação 3.1) e tartarato neutro de cálcio (equação 3.2).



Quando se está perante uma situação de equilíbrio químico, a concentração de cada ião presente na solução é equivalente à solubilidade do sal. O produto de solubilidade (Ps) compara um soluto com baixa solubilidade com os seus iões (equação 3.3 e 3.4).

$$P_{s_{\text{THK}}} = [\text{HT}^{-}] \times [\text{K}^{+}] \quad (3.3)$$

$$P_{s_{\text{CaT}}} = [\text{T}^{2-}] \times [\text{Ca}^{2+}] \quad (3.4)$$

Assim sendo, se a solução se encontrar saturada, ou seja, o valor do produto das concentrações efetivas dos iões for igual ao produto de solubilidade, não haverá formação de cristais em solução, mas se a solução estiver insaturada, quer dizer que ainda se pode dissolver mais soluto na solução. O problema da instabilidade tartárica não se refere a qualquer destas duas situações, mas sim, à situação em que o produto das concentrações efetivas dos iões ultrapassa o valor do produto de solubilidade, solução sobressaturada, ocorrendo por isso a precipitação de cristais que se depositam nas garrafas de vinho [16].

O processo de cristalização ocorre em duas etapas, denominados como fase de nucleação e fase de crescimento. No primeiro estágio, sucede a formação de cristais. No segundo estágio ocorre o crescimento dos cristais, decorrente da migração dos iões para a superfície dos cristais formados [16].

A quantidade de tartarato neutro de cálcio é considerável quando o vinho é exposto a bentonite cálcica ativada e carbonato de cálcio (usados para a desacidificação do vinho). A quantidade de iões de bitartarato e potássio tem interferência na precipitação de cristais de bitartarato de potássio, que aparece no vinho a baixas temperaturas.

Um fator que tem influência na solubilidade do bitartarato de potássio, é o uso dos coloides protetores. Os coloides protetores, como as proteínas, polifenóis, polissacarídeos e outros componentes de peso molecular elevado impossibilitam a migração dos iões de bitartarato de potássio para os núcleos dos cristais formados. Estes coloides, unem-se às superfícies dos cristais, e impedem a inclusão de novas moléculas de bitartarato de potássio nos cristais formados, inibindo o seu crescimento. Em contrapartida, estes coloides, podem também gerar complexos com ácido tartárico livre e com iões de potássio. O vinho na sua matriz já apresenta coloides protetores. Os vinhos tintos e licorosos, são os que apresentam maior quantidade de coloides [16].

3.1.1 Fatores que influenciam a precipitação tartárica

A precipitação tartárica depende de diversos fatores que podem ter uma influência positiva ou negativa na fase de nucleação e de crescimento dos cristais. Perante condições favoráveis, os cristais podem desenvolver-se e acabarem por precipitar.

Existem diversos fatores que influenciam a precipitação tartárica, sendo os mais relevantes, que condicionam o processo de cristalização, apresentados seguidamente [15].

3.1.1.1 Influência do teor alcoólico

A solubilidade dos compostos iónicos e polares é influenciada pelo teor alcoólico. Assim, quanto maior for o teor alcoólico presente no vinho, menor é a solubilidade destes compostos, e maior é o risco de ocorrer precipitação.

Este facto é explicado, porque a água apresenta maior constante dielétrica que o etanol (80 e 30, respetivamente), e, conseqüentemente maior polaridade. Como solventes polares dissolvem solutos polares, esta regra esclarece o facto da solubilidade dos compostos polares e iónicos, como o bitartarato de potássio, decrescer com a constante dielétrica. Logo, à medida que a fração de etanol aumenta, a polaridade da solução vai diminuir, o que irá conduzir a uma menor solubilidade destes compostos no vinho.

Na tabela 3.1, estão apresentados os valores de solubilidade para o bitartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio para valores de teores alcoólicos diferentes, à temperatura de 20 °C.

Tabela 3.1. Solubilidade dos sais tartáricos, a 20 °C [16].

Componentes	Solubilidade	
	Etanol 0 % (v/v)	Etanol 12 % (v/v)
THK	4,91	2,76
CaT	0,206	0,103

Como se pode constatar, através da tabela 3.1, o teor alcoólico de uma solução influencia a solubilidade do bitartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio.

Com a diminuição da solubilidade, estes compostos precipitam com maior facilidade. Portanto, quanto maior o teor alcoólico do vinho, maior é a possibilidade de ocorrência de precipitações tartáricas [15,16].

3.1.1.2 Influência do pH

O pH do vinho tem efeito sobre o equilíbrio de dissociação do ácido tartárico, que por sua vez influencia a proporção de cada uma das espécies de tartarato presentes em solução. A figura 3.2, apresenta o comportamento destas espécies em função do pH, para uma solução aquosa.

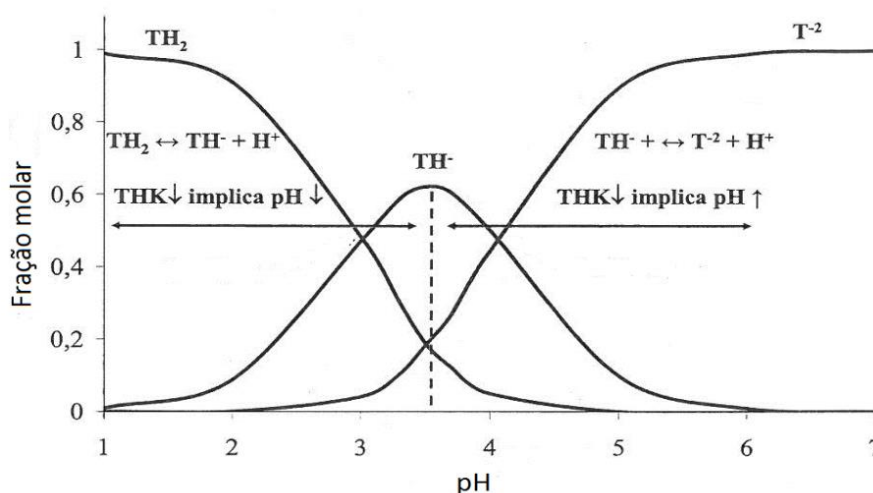


Figura 3.2. Comportamento do ácido tartárico e das suas formas ionizadas em função do pH, para uma solução aquosa [16].

Como se pode verificar, à medida que o pH aumenta a fração de ácido tartárico diminui, aumentando a concentração de iões de bitartarato e tartarato. Para uma solução aquosa, a precipitação máxima de bitartarato de potássio ocorre próximo de um pH de 3,70. Relativamente ao tartarato neutro de cálcio, este apresenta valores de fração molares significativos a partir de um pH de 5 [15,16].

3.1.1.3 Influência da temperatura

A temperatura é outro fator importante para a precipitação tartárica. Normalmente, a baixas temperaturas ocorre uma cristalização rápida e se simultaneamente ocorrer agitação, esta induz a formação de núcleos de cristalização.

Desta forma, entende-se que o princípio da estabilidade tartárica compreende uma diminuição da temperatura do vinho para valores de temperatura próximos da temperatura de congelação e agitação, estimulando o aumento da sobressaturação e conseqüentemente a hipótese de formação de cristais e a sua precipitação [15,16].

A solubilidade do bitartarato de potássio é mais afetada pela temperatura que a do tartarato neutro de cálcio.

A tabela 3.2, apresenta valores de solubilidade do bitartarato de potássio em função da temperatura.

Tabela 3.2. Valores de solubilidade do bitartarato de potássio, para soluções com 12 % de álcool, para diferentes temperaturas [16].

Temperaturas(°C)	Solubilidade
	Etanol 12 % (v/v)
-4	0,91
0	1,11
4	1,34
8	1,65
12	1,99
16	2,35

Como se pode constatar, o aumento da temperatura no vinho, favorece a solubilidade de bitartarato de potássio [15].

3.2 Instabilidade proteica

A precipitação proteica, depende de diversos fatores como o pH, a existência de compostos fenólicos e de determinados ácidos orgânicos. Os ácidos encontram-se ionizados e interagem com as proteínas que se encontram carregadas positivamente ao pH do vinho. Impossibilitando, assim, a reação indesejável das proteínas com os compostos fenólicos [16].

A precipitação de proteínas solúveis no vinho, normalmente as mais instáveis com pesos moleculares entre a 20 a 40 kDa, originam uma turvação ou um depósito, que ocorre mais frequentemente em vinhos brancos ou vinhos com um teor de compostos fenólicos baixo. As proteínas podem operar como núcleos, aos quais, ferro solúvel, cobre e outros metais pesados podem ligar-se e depositar. A denominada névoa proteica que aparece no vinho, é possivelmente, um complexo de proteínas, polissacarídeos e fenóis com quantidades reduzidas de cinzas inorgânicas. É a partir da uva que se obtém a maior parte das proteínas presentes no vinho [17].

Como forma de prevenção da instabilidade proteica, podem ser usados diversos produtos com a finalidade de remover as proteínas instáveis, prevenindo assim a sua precipitação. A bentonite é um complexo de silicato de alumínio hidratado e é o agente de colagem mais comum para adsorção das proteínas. Este composto possui carga negativa, e tem a capacidade de reagir com as proteínas presentes no vinho com carga predominantemente positiva, levando à floculação e sequente precipitação. A adição de

bentonite no vinho tem de ser em doses pequenas porque este composto apresenta algumas limitações, pois para além de remover as proteínas, pode reagir com outros compostos e afetar as características sensoriais do vinho [18].

Existem diversos testes usados para determinar a dose de bentonite adequada para garantir a estabilidade dos vinhos. Uma das técnicas mais aplicadas compreende a exposição de uma amostra a uma temperatura de cerca de 80°C, durante 30 minutos. Seguidamente a amostra é arrefecida e avaliada, tendo em consideração a presença ou ausência de precipitados. Esta avaliação consiste na determinação da turbidez do vinho antes e depois de estar em contacto com o calor. Se a diferença entre os valores de turbidez medidos for considerável estamos perante um vinho instável proteicamente. Dependentemente da precipitação gerada, avalia-se a quantidade mais indicada de bentonite a adicionar [18].

3.3 Instabilidade 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, devido a uma descida no teor de antocianinas monoméricas e um aumento de pigmentos poliméricos. Estes pigmentos que aparecem no vinho são obtidos através da reação direta das antocianinas com as proantocianidinas, ou através de pontes de etanal [19].

Para a estabilização da cor, normalmente, adiciona-se goma arábica aos vinhos. Esta resina natural constituída por polissacarídeos e glicoproteínas permite melhorar as características sensoriais do vinho e assegura a estabilização corante. Frequentemente, para garantir a sua permanência, antes de se adicionar a goma filtra-se o vinho. Um dos testes mais usados para avaliar a precipitação corante é a exposição da amostra de vinho a baixas temperaturas num período de tempo de aproximadamente 24 h e verificar visualmente se ocorreu alguma precipitação (figura 3.3). No caso de se confirmar a sua existência está-se perante um vinho instável [16].

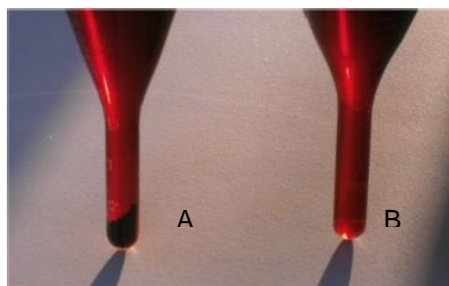


Figura 3.3. Efeito da estabilização corante em vinho tinto, recorrendo a uma testemunha (A) e a uma amostra com adição de goma arábica(B) [20].

Capítulo 4 . Testes para Avaliação da Estabilidade Tartárica

Os testes de estabilidade tartárica são usados para avaliar a necessidade de aplicação de um tratamento para estabilizar o vinho tartaricamente. Existem diversos métodos disponíveis que são aplicados no controlo de qualidade da produção de vinhos. Alguns dos métodos só quantificam a instabilidade do vinho, outros só servem para confirmar ou não a existência de estabilidade.

Um dos métodos mais comumente usado é o teste de permanência no frio, porém devido a ser pouco preciso, desenvolveram-se novos métodos como os testes de mini-contacto e de Würdig.

4.1 Teste de permanência no frio

Este é um teste simples e empírico, em que a amostra, após ser filtrada é armazenada num frigorífico a 0°C durante 4 a 6 dias, e em seguida é avaliada visualmente a presença ou não de cristais. Outra opção para este tipo de teste será colocar a amostra no congelador a uma temperatura de -18 °C durante um período de tempo de 8 horas. Neste caso, o estado coloidal é modificado pela congelação e a precipitação de bitartarato é superior [14].

É um método que apresenta como vantagens a sua simplicidade e o facto de não necessitar de nenhum equipamento específico. Por outro lado, tem como desvantagens o facto de ser um método qualitativo (não indica um valor preciso do grau de instabilidade do vinho) e ser demorado [15].

4.2 Teste do mini-contacto

Este é um teste quantitativo, realizado com agitação constante, em que uma amostra de vinho previamente filtrada é exposta a uma temperatura de 0°C e são adicionados cristais de bitartarato de potássio para induzir a precipitação durante um determinado período de tempo.

Através da variação da condutividade elétrica medida durante o teste, verifica-se o grau de instabilidade do vinho. Levando em consideração que os iões de potássio são os principais responsáveis pela condutividade no vinho, quanto maior for a diminuição deste parâmetro, maior é a quantidade de bitartarato de potássio que precipita, e consequentemente, maior será a instabilidade do vinho [16].

4.3 Teste do Würdig

Würdig et al. (1982) constatou que a baixas temperaturas, quanto maior for a quantidade de bitartrato de potássio que um vinho consegue dissolver, menor será a possibilidade de ocorrerem precipitações cristalinas, porque menor será o grau de sobressaturação do vinho relativamente a esse sal. Com base nessa constatação introduziu-se o conceito de temperatura de saturação [15]. A temperatura de saturação representa a menor temperatura com capacidade para dissolver bitartrato de potássio exógeno. Para a sua determinação, é necessário construir um gráfico com duas curvas (figura 4.1). A nível laboratorial, executam-se dois ensaios. No primeiro uma amostra de vinho é arrefecida até 0 °C. e é medida a sua condutividade, numa gama de temperaturas, em que esta sobe de uma maneira gradual (cerca de 0,5 °C). Seguidamente, é adicionada à mesma amostra uma determinada quantidade de bitartrato de potássio e são lidos os valores de condutividade nos mesmos pontos de temperatura

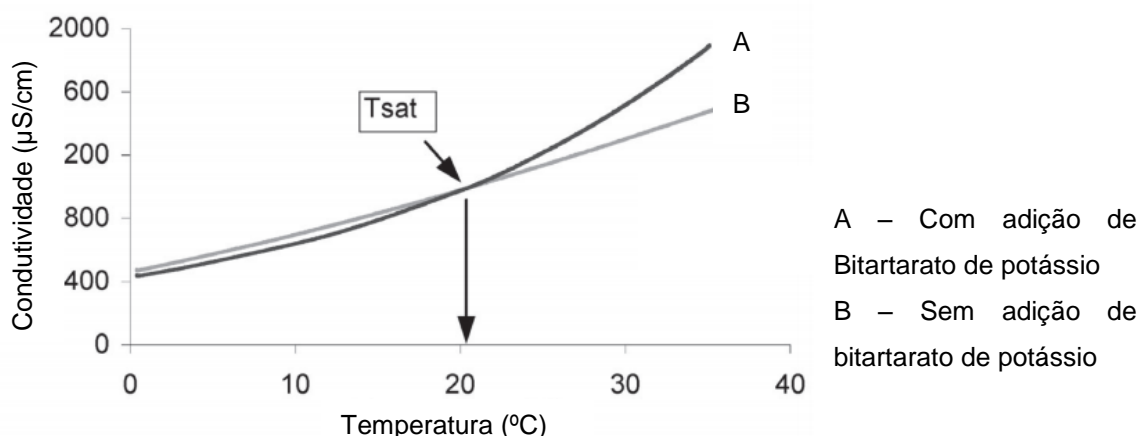


Figura 4.1. Modelo de um gráfico adquirido na determinação da condutividade de duas amostras, com e sem adição de bitartrato de potássio, em função da temperatura. (Adaptado [16]).

Como se pode verificar através da análise do gráfico da figura 4.1, para temperaturas mais baixas, a amostra sem adição de bitartrato de potássio apresenta condutividade superior à da amostra com adição de cristais de bitartrato de potássio. Para baixas temperaturas a amostra com adição de cristais sofre uma cristalização induzida, conduzindo a uma diminuição de condutividade.

À medida que a temperatura aumenta, e a partir de um determinado valor de temperatura, começa a ocorrer a dissolução do bitartrato de potássio e como consequência a condutividade da amostra, que contém cristais de bitartrato, começa a aumentar exponencialmente. A temperatura para a qual as duas retas se intersectam denomina-se temperatura de saturação (T_{sat}). Quanto maior for esta temperatura, mais instável é o vinho. Esta temperatura define duas zonas distintas, pois acima deste valor o vinho encontra-se

estável e abaixo desse valor, aumenta o risco de precipitações tartáricas. Apesar desta temperatura permitir ter uma ideia do grau de instabilidade do vinho, a temperatura de cristalização é a única responsável na determinação deste risco.

Uma das desvantagens deste método é que não é aplicável em vinhos que sofreram tratamento tartárico recorrendo a produtos químicos [16].

Capítulo 5 . Tratamentos para estabilização tartárica de vinhos

Existem diversos tipos de tratamentos que são utilizados na estabilização tartárica do vinho e dividem-se em processos físicos ou químicos. O processo físico tem como finalidade eliminar cristais de bitartarato de potássio, através da exposição dos vinhos a temperaturas próximas do seu ponto de congelamento. Relativamente aos processos químicos usados para a estabilização tartárica dos vinhos, estes baseiam-se na utilização de compostos que inibem a precipitação tartárica, como a carboximetilcelulose e as manoproteínas [16].

5.1 Métodos físicos

5.1.1 Estabilização por frio

A estabilização por frio consiste no arrefecimento do vinho até uma temperatura abaixo da temperatura de cristalização do bitartarato de potássio, porém esta temperatura tem de estar acima da temperatura de congelação do vinho. A quantidade de álcool presente no vinho tem influência na sua temperatura de congelação. Esta temperatura é tanto mais baixa quanto maior for a quantidade de etanol. A temperatura de congelação é calculada pela equação 5.1.

$$T_{\text{congelação}} = -\frac{T_{\text{AV}}}{2} + 1 \quad (5.1)$$

Em que T_{AV} representa o grau alcoólico volúmico.

Este processo necessita que seja determinado um tempo específico e uma temperatura e requer a decisão de se incorporar ou não bitartarato de potássio, em caso afirmativo esta quantidade também tem de ser levada em consideração. Vários estudos concluíram que uma adição de 4 g/L é o suficiente para se conseguir ter uma solução sobressaturada que conduza a uma precipitação de cristais.

Após a formação dos núcleos, os cristais crescem e podem ser removidos. Uma agitação regular é importante, para promover o contacto entre os cristais e os iões envolvidos e para favorecer um aumento da velocidade de cristalização [16].

5.1.1.1 Estabilização lenta, sem adição de cristais de bitartarato de potássio

Este método de estabilização lenta consiste em arrefecer o vinho e armazená-lo a uma temperatura próxima do seu ponto de congelação, ao longo de duas a três semanas. O vinho é exposto a uma temperatura baixa, para diminuir a solubilidade de bitartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio, pois estes compostos precipitam, quando apresentam uma concentração elevada relativamente à sua solubilidade.

A concentração de bitartarato vai decrescendo mais rapidamente durante os primeiros dias, diminuindo mais gradualmente, à medida que o bitartarato de potássio e o tartarato neutro de cálcio vão desaparecendo na solução [14,16].

5.1.1.2 Estabilização rápida, com adição de cristais de bitartarato de potássio (THK) (método de contacto)

O processo de estabilização rápida compreende o arrefecimento e armazenamento do vinho a uma temperatura de 0 °C, com a adição de aproximadamente 4 g/L de cristais de THK. Estes cristais operam como núcleos de cristalização, superando, assim, a fase de indução. O contacto do THK com o vinho é promovido por uma agitação constante, o que aumenta a quantidade de núcleos de cristalização e a velocidade de formação e crescimento destes cristais. Este processo é mais rápido que o da estabilização lenta sem adição de cristais, porém requer o uso de cristais o que leva a um impacto negativo a nível económico. Para atenuar esse impacto, os cristais podem ser reutilizados, após lavagem, o que permitirá reduzir o custo no processo [14,16].

5.1.1.3 Estabilização rápida, com adição de cristais de bitartarato de potássio (método contínuo)

Este método de estabilização rápida compreende o arrefecimento rápido do vinho, até uma temperatura semelhante à do seu ponto de congelação. Neste processo também se adicionam cristais de THK (cerca de 4 g/L).

O vinho circula com agitação continua num permutador antes de entrar no cristalizador. No permutador ocorre o choque térmico que permite melhorar as condições para uma boa nucleação. Depois de algum tempo no permutador, o vinho é enviado para o cristalizador onde se dá uma rápida cristalização do THK devido ao estado de sobressaturação e à turbulência do vinho. Posteriormente, o vinho é filtrado e centrifugado à temperatura a que acontece o tratamento para impedir a dissolução de THK.

Em determinados sistemas, antes de ocorrer a filtração existem hidrociclones que possibilitam readquirir os cristais de THK e voltar a inseri-los no sistema [14,16].

A figura 5.1, representa um sistema de tratamento em contacto dinâmico.

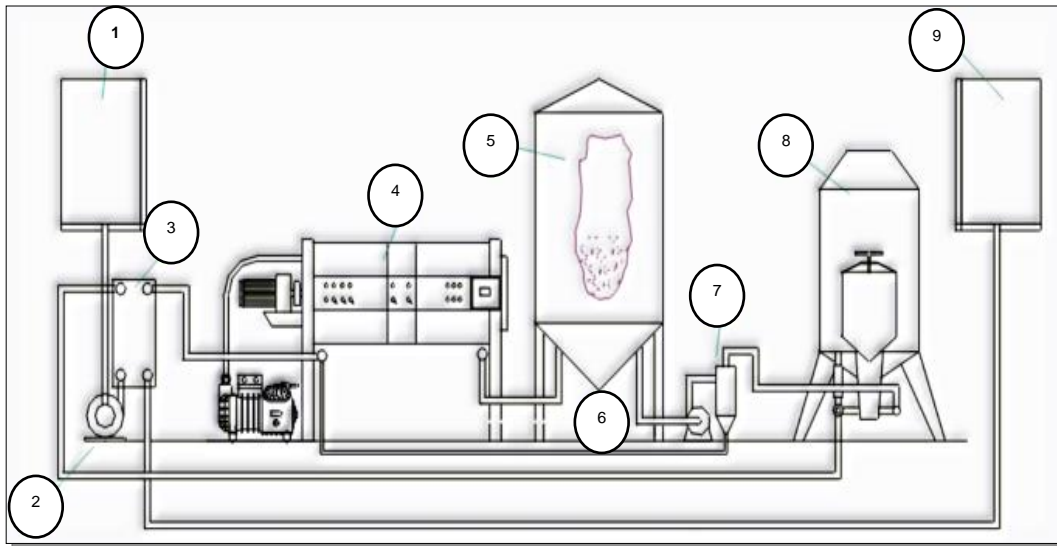


Figura 5.1. Bomba de alimentação; 3- Permutador de calor; 4- Refrigerador; 5- Cristalizador; 6-Exatção de tartarato (purga); 7-Vortéx; 8-Filtro; 9-déposito de vinho tratado [21].

É importante existir um exigente controlo operacional a nível da qualidade destes cristais e na determinação dos tempos de contacto. Para facilitar todo o processo torna-se essencial eliminar alguns coloides protetores, para melhorar a precipitação.

O tratamento por frio pode ser suplementado como outros tratamentos, como as resinas permutadoras de iões ou através da estabilização química [14].

5.1.2 Resinas de permuta iónica

Este tipo de tratamento compreende a imersão das resinas diretamente no vinho, ou preferencialmente a passagem do vinho numa coluna que apresenta na sua constituição uma resina (catiónica ou aniónica).

Estas resinas devem obedecer a diversos critérios para serem utilizadas em enologia, tais como, resistência mecânica, serem insolúveis no vinho, ausentes de sabores estranhos e apresentarem a possibilidade de poderem ser regeneradas várias vezes.

O uso de resinas catiónicas em estabilização tartárica consiste na capacidade destas captar os iões de cálcio e potássio e substituí-los por iões de sódio e hidrogénio.

Quando o vinho apresenta baixa acidez total e pH alto, as resinas utilizadas podem ser resinas catiónicas na forma de hidrogénio, em que os catiões presentes no vinho são trocados por iões de hidrogénio, levando a uma descida brusca do pH [14].

Nas resinas aniónicas, os iões de tartarato são removidos do vinho através da troca iónica com iões hidróxido (OH^-) [22]. Em qualquer dos casos há uma diminuição da

concentração de um dos íons (potássio ou tartarato), que são os responsáveis pelas precipitações tartáricas.

Só uma pequena parcela do vinho é que é tratada, e posteriormente combinada com o restante vinho, para se alcançar um produto estável. A passagem total do vinho nas resinas, alteraria significativamente o pH do vinho, pelo que, normalmente, apenas 10 a 25 % do vinho é que passa nas mesmas, juntando-se posteriormente ao vinho tratado [23].

Neste tipo tratamento, a resina também tem o poder de adsorver, outros íons, e alguns constituintes corantes e aromáticos, com influência na qualidade do vinho [16].

5.1.3 Eletrodialise

A eletrodialise é um método que possibilita a separação de espécies iônicas e moléculas neutras presentes em solução através da ação de um campo elétrico, com o uso de membranas seletivas catiónicas e aniónicas.

As membranas catiónicas, são permeáveis aos catiões conduzindo a uma remoção gradual de íons de potássio e cálcio. As membranas aniónicas são permeáveis aos aniões, e conduzem à remoção do íão de bitartarato (HT^-). As duas membranas apresentam, no entanto, semelhanças em relação à sua matriz densa, que tem como finalidade impossibilitar a migração de moléculas maiores, que não apresentam carga elétrica, como por exemplo, componentes da cor e sabor dos vinhos.

O princípio básico da eletrodialise esta representado na figura 5.2, e mostra uma série de membranas aniónicas e catiónicas alternadas.

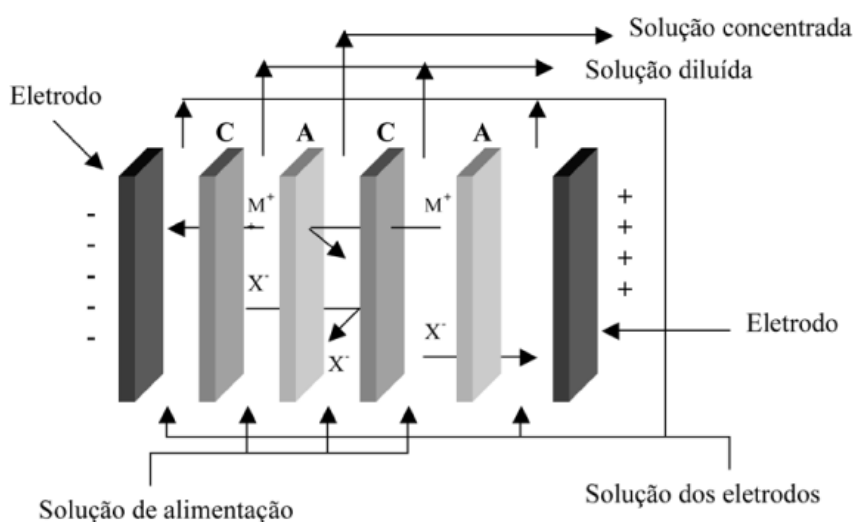


Figura 5.2. Diagrama representativo do princípio da eletrodialise [24].

Através da figura 5.2, pode-se constatar que as membranas de permuta iónica e catiónica estão separadas por juntas de espaçamento, o que faz com que originem células individuais. Quando uma solução eletrolítica é bombeada por entre as células, é criado um potencial elétrico, para fazer com que os catiões migrem para o cátodo.

Estes iões passam assim, por a membrana catiónica, mas ficam bloqueados na membrana aniónica. Da mesma maneira os aniões, passam por a membrana aniónica, mas ficam bloqueados pela membrana catiónica. Este acontecimento, origina uma diferença de concentrações. O vinho é a solução mais diluída que apresenta baixa concentração de iões que originam a instabilidade tartárica.

Este é um processo que se adequa ao equilíbrio físico-químico de cada vinho, e que remove apenas a quantidade de potássio e ácido tartárico necessária para a estabilidade do vinho. Para além disso, este tratamento ainda previne estabilizações com tartarato de cálcio, porque elimina parte do cálcio presente na solução.

Quando se compara este processo com outros tratamentos mais clássicos verifica-se que este método é economicamente mais viável, a nível de auxiliares de filtração e apresenta custos energéticos mais baixos [15].

5.2 Métodos químicos

5.2.1 Ácido metatartárico

O ácido metatartárico é um poliéster que resulta da reação de esterificação do ácido tartárico. Quando este ácido é aquecido, sob pressão, sucede a libertação de água e origina uma substância polimerizada, por reação entre a função ácida de uma molécula e a função álcool secundária de outra molécula.

No vinho a sua concentração máxima permitida é de 100 mg /L e assume carga elétrica negativa, proporcional ao seu grau de esterificação. A sua adição tem como finalidade impedir a precipitação de bitartarato de potássio e tartarato neutro de cálcio, devendo ser realizada logo após o seu engarrafamento [25].

Apresenta como principal limitação a sua hidrólise natural, que faz com que perca o seu efeito inibidor e o aumento da acidez do vinho.

As moléculas deste ácido atuam bloqueando o crescimento dos núcleos onde acontece a formação dos cristais de tartarato, impedindo o seu desenvolvimento, e, conseqüentemente, a sua precipitação. Este processo no vinho ocorre por adsorção na superfície desses núcleos.

Um facto importante sobre as soluções de ácido metatartárico é que estas são instáveis, pois deterioram-se muito facilmente, devido a serem muito sensíveis à temperatura [14,15].

5.2.2 Goma arábica

A goma arábica é uma substância de origem natural e consiste numa mistura de arabinogalactanas e proteínas de arabinogalactanas provenientes de acácias do Norte de África. As gomas que são utilizadas em enologia são obtidas fundamentalmente a partir de duas espécies de árvores: a Acácia Seyal (gomas de cadeia curta), e a Acácia Verek (gomas de cadeia mais longa).

Após sofrer uma hidrólise ácida as frações resultantes da goma arábica são essencialmente constituídas por: 40-45 % de D-galactose, 25-30% de L-arabinose, 10-15% de L-ramnose e ácido D- glucurónico.

A goma arábica é utilizada em enologia como coloide protetor, permitindo melhorar a estabilidade coloidal dos vinhos. Para além disso, ainda permite melhorar a estabilidade tartárica, metálica e da matéria corante.

Nos vinhos tintos, é empregue para estabilizar a matéria corante coloidal e para proteger contra os riscos de desagregações metálicas superficiais. Quando os vinhos tintos são jovens, a fração de substâncias corantes no estado coloidal pode ser suprimida durante a etapa de clarificação. Observando-se uma absorção das antocianinas e uma diminuição na intensidade corante. Uma solução económica é a estabilização da substância corante natural dos vinhos tintos pela goma arábica, que diminui os fenómenos de polimerização e de precipitação de matéria corante.

Em vinhos brancos é utilizada para a estabilização tartárica e para a estabilização proteica. O seu uso na estabilidade proteica está associado às proteínas instáveis presentes no vinho, normalmente com pesos moleculares mais baixos, transformarem-se em micelas coloidais dispersas que podem flocular e causar turvação no vinho, sendo a goma arábica usada como forma de prevenção.

Geralmente, esta goma intervém segundo 3 mecanismos diferentes como se pode verificar através da figura 5.3 [26].

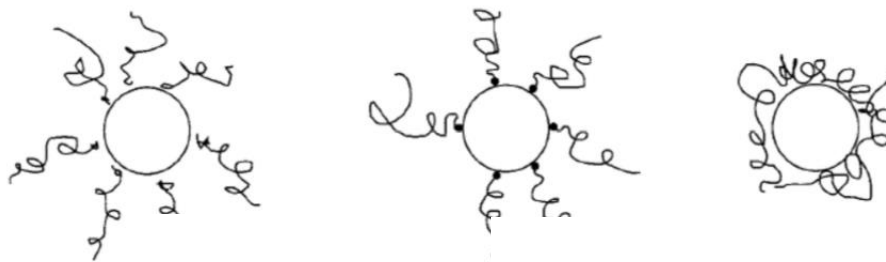


Figura 5.3. Mecanismos de intervenção dos polissacarídeos para prevenir a floculação dos fragmentos coloidais. 1-Oclusão dos polímeros, 2- ligações covalentes, 3- isolamento dos polímeros [26].

Quando adicionada ao vinho juntamente com outras substâncias (carboximetilcelulose ou ácido metatartárico) reforça a eficácia na estabilidade tartárica, impedindo ou retardando o crescimento de cristais de tartarato [27].

Como principais limitações apresenta o risco de aumentar o índice de colmatagem do vinho e, conseqüentemente, diminuir a sua filtrabilidade.

A goma arábica não tem um limite legal regulamentar [26].

5.2.3 Manoproteínas

As manoproteínas são polissacarídeos presentes nas paredes celulares das leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e podem aparecer no vinho de uma forma natural ou ser adicionadas sob a forma de soluções comerciais [15].

O seu uso em enologia está diretamente associado à necessidade de reduzir ou mesmo eliminar a aplicação de bentonite que é uma cola inorgânica que apresenta algumas limitações, principalmente quando aplicada em doses elevadas. As manoproteínas são muitas vezes utilizadas como estabilizantes, prevenindo a turvação proteica, inibindo a cristalização de sais de tartarato de potássio e melhorando as características sensoriais do vinho. Estas são constituídas por açúcares totais, manose, glucose e proteína total, sendo as manoproteínas mais eficazes na estabilização proteica dos vinhos as que possuem na sua constituição maior concentração em manose e menor concentração de proteína total [2,28].

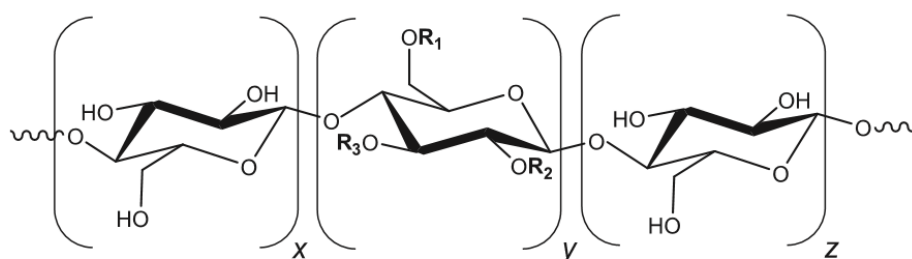
As manoproteínas, são assim, uma boa opção para a substituição da bentonite e podem ser usadas nos diferentes tipos de vinhos, melhorando a sua qualidade e aumentando a sua estabilidade.

5.2.4 Carboximetilcelulose (CMC)

A carboximetilcelulose (CMC) é um polímero de celulose utilizado na indústria alimentar desde os anos 50 do século passado. Contudo, só recentemente foi autorizado o seu uso em enologia para tratar a instabilidade tartárica de todos os tipos de vinho, com uma concentração máxima de 100 mg/L.

O CMC é um polissacarídeo obtido através da esterificação dos grupos hidroxilo das unidades de glucose presentes na celulose com o ácido monocloroacético, na presença de hidróxido de sódio. As suas características estruturais principais são o grau de substituição (número de grupos ácido carboxílico por unidade de anidro-glucose) e o grau de polimerização (número de unidades de glucose contidas num polímero). Devido à possibilidade de se obter diferentes graus de substituição e polimerização é possível produzir-se vários tipos de CMC com características muito diferentes [29].

Na figura 5.4, está representada a estrutura molecular do CMC.



$$\text{Grau de substituição} = y/(x+z)$$

$$R_1 = \text{H ou } \text{CH}_2\text{COO-X}^+$$

$$R_2 = \text{H ou } \text{CH}_2\text{COO-X}^+$$

$$\text{Grau de polimerização} = x+y+z$$

$$R_3 = \text{H ou } \text{CH}_2\text{COO-X}^+$$

$$\text{X}^+ = \text{Na}^+ \text{ ou } \text{K}^+$$

Figura 5.4. Representação esquemática da estrutura molecular do CMC [30].

Este polissacarídeo, ao pH do vinho, apresenta carga negativa, o que possibilita a interação com a superfície dos cristais de THK eletropositiva e/ ou por meio da captação de iões K^+ [29,30].

Aquando da sua aplicação deve-se ter em consideração alguns fatores que variam conforme o tipo de vinho a usar. A utilização em vinho branco e rosado necessita de uma prévia estabilização proteica, devido ao facto das proteínas presentes no vinho existirem com um balanço de carga maioritariamente positiva, podendo ocorrer uma interação, e levar

à sua insolubilização. No caso da aplicação ser em vinho tinto é importante perceber a interação com a matéria corante, porque existe um elevado risco desta precipitar e ocorrer um aumento da turbidez.

Para ser utilizado em enologia, o CMC tem de ter idealmente um grau de substituição compreendido num intervalo de 0,60 a 0,95, porque estes são os valores que garantem uma solubilidade completa deste composto no vinho. Relativamente ao peso molecular este deve estar compreendido entre 17 kDa e 300 kDa (grau de polimerização de 80 a 1500) [31].

O uso de CMC no vinho é uma vantagem para a enologia, visto que, quando usado numa dosagem adequada, origina uma elevada capacidade estabilizante que se mantém por um período de 3 a 4 anos [29,30].

Capítulo 6 . Materiais e Métodos

Os estudos e ensaios apresentados nesta dissertação foram executados no laboratório da empresa, SAI-Segurança Alimentar Integrada, Lda. Este laboratório conta com diversos equipamentos, necessários para ensaios enológicos, para o controlo de qualidade dos produtos comercializados na empresa e nas análises de controlo periódico de vinhos dos seus clientes. O laboratório encontra-se sempre com uma temperatura constante de cerca de 20 °C, para que não haja interferências nos equipamentos de medição utilizados. Os principais testes executados foram relativos à estabilidade tartárica, proteica, corante, cor e aos parâmetros físico-químicos das amostras.

Neste capítulo serão apresentados todos os materiais e reagentes usados, assim como, todos os métodos aplicados.

6.1 Reagentes e material

6.1.1 Goma Arábica

Neste estudo, foram utilizadas três gomas arábicas comercializadas pela empresa.

As três gomas apresentam diferentes características e objetivos de aplicação, no entanto, contribuem positivamente para a estabilidade e melhoria sensorial do vinho.

A tabela 6.1, apresenta as três gomas arábicas (GA) em estudo.

Tabela 6.1. Diferenciação das diferentes Gomas utilizadas no presente estudo.

Goma Arábica	Origem	Aplicação
Cadeia curta (GA ₁)	<i>Acácia Seyal</i>	Vinhos brancos,
Cadeia longa(GA ₂)	<i>Acácia Verek</i>	rosés, tintos,
Cadeia intermédia (GA ₃)	<i>Acácia Seyal + Acácia Verek</i>	espumantes e licorosos.

A primeira goma (GA₁), apresenta grande capacidade de estabilização tartárica e boa filtrabilidade. É mais adequada para aplicação em vinhos brancos e rosés, para afinação de espumantes e em vinhos tintos com baixa a média adstringência. A sua capacidade protetora é principalmente eficaz contra os polifenóis e proteínas em vinhos tintos e brancos, respetivamente [26]. A sua adição melhora a estabilidade tartárica devido à sua afinidade com a superfície dos microcristais de THK, impedindo o seu crescimento e a sua precipitação.

Por outro lado, a segunda goma (GA₂) desempenha um papel de proteção coloidal, uma vez que tem um poder protetor especialmente eficaz contra os polifenóis e proteínas de

vinhos brancos e tintos. Esta goma é, particularmente eficaz, na prevenção da precipitação de matéria corante em vinhos tintos. Apresenta a capacidade de evitar depósitos de colóides e a turvação, mantendo a limpidez dos diferentes tipos de vinho [26].

A goma (GA₃) é obtida do exsudado da *Acacia Seyal* e *Verek* (mistura das gomas GA₁ e GA₂). A sua adição permite melhorar a estabilidade coloidal, prevenindo, principalmente as casses férrica e cúprica. A sua capacidade protetora é eficaz contra os polifenóis e proteínas em vinhos tintos e brancos [26].

Todas as gomas em estudo, têm a capacidade de melhorar as características sensoriais do vinho, como o arredondamento, volume e doçura de boca.

6.1.2 Carboximetilcelulose (CMC)

A carboximetilcelulose (CMC) é um polissacarídeo à base de celulose utilizado em enologia para a estabilização tartárica de todos os tipos de vinhos. Neste estudo foram utilizados dois tipos de CMC, com diferentes graus de polimerização.

Na tabela 6.2, apresentam-se os dois tipos de CMC em estudo.

Tabela 6.2. Diferenciação dos dois tipos de carboximetilcelulose em estudo.

Produto	Grau de polimerização	Aplicação
CMC_a	Maior	Vinhos brancos, rosés, tintos, espumantes e licorosos.
CMC_b	Menor	

Para além dos CMC testados neste estudo (CMC_a e CMC_b) avaliou-se também os parâmetros de outros tipos de CMC, com diferentes propriedades, com o objetivo de se perceber melhor a performance da carboximetilcelulose (CMC_c, CMC_d e CMC_e).

Todos os CMC têm a mesma concentração (CMC 10%) exceto o CMC_e que apresenta concentração inferior (CMC 5%). O que varia nestas soluções é a quantidade de enzima adicionada, assim como, o tempo da reação do CMC com a enzima, no que resulta diferentes graus de polimerização.

6.1.3 Tipo de vinhos

No presente estudo foram utilizados três tipos de vinho instáveis tartaricamente: branco, tinto e rosado. O objetivo foi avaliar a influência dos produtos desenvolvidos na

performance dos vários tipos de vinho. Os parâmetros a avaliar para estabelecer a performance foram a estabilidade tartárica, proteica, de matéria corante e cor.

Todos os vinhos testemunha foram sujeitos a uma análise sumária, corrente em enologia, antes de ser aplicado qualquer tratamento. Esta é uma análise preliminar, em que são avaliados os seguintes parâmetros:

- pH;
- Teor alcoólico adquirido;
- Massa volúmica;
- Acidez total;
- Acidez volátil;
- Dióxido de enxofre livre.

6.2 Determinações analíticas

6.2.1 Determinação do peso molecular

A determinação do peso molecular foi realizada segundo o processo descrito por Gómez-Díaz e Navaza (2002). Neste método a viscosidade do CMC é determinada recorrendo a uma solução de NaCl 0,1 M como solvente. As concentrações de CMC utilizadas para cada ensaio vão depender deste produto e da sua viscosidade, sendo que para CMC mais viscosos utilizou-se concentrações mais baixas.

Para a preparação destas soluções recorreu-se a várias diluições utilizando como solvente a solução de NaCl.

A viscosidade relativa foi medida com o modelo ASTM D2515 Viscometer capilar Ubbelohde a 20 ± 0.1 °C. Neste ensaio, as diversas preparações de CMC são forçadas a escoar por o viscosímetro, saindo de um reservatório e entrando em um bulbo de medição, e o tempo em que ocorreu todo o processo permite avaliar a viscosidade.

A viscosidade intrínseca foi obtida por extrapolação da viscosidade reduzida (equação 6.1) e viscosidade inerente (equação 6.2) versus a concentração dos CMCs em estudo:

$$[\mu] = [\mu_{reduzida}]_{c \rightarrow 0} \quad (6.1)$$

$$[\mu] = [\mu_{inerente}]_{c \rightarrow 0} \quad (6.2)$$

O peso molecular (PM) foi obtido com base na equação de Mark Houwink [30]:

$$[\mu] = K \times PM^a \quad (6.3)$$

Em que: $K=0,00123$
 $a=0,91$

Todas as análises foram realizadas em triplicado.

O procedimento usado na utilização deste equipamento e os exemplos de cálculo da viscosidade intrínseca e peso molecular estão descritos no anexo A.

6.2.2 Determinação do grau de substituição do CMC

O grau relativo de substituição do CMC foi determinado de acordo com o método modificado por Damlin, Mokka e Salmi (2010). A quantidade relativa de glucose e a glucose carboximetilada foi determinada através de cromatografia com detecção amperométrica pulsada após hidrólise ácida (H_2SO_4 1 M, 2,5 h). O cromatógrafo utilizado foi um HPLC UltiMate 3000, Dionex, com um detetor de fotodíodos PDA-100, Dionex.

A separação foi realizada usando uma coluna CarboPac PA-20 (150 mm x 3 mm) com uma pré-coluna CarboPac PA-20 (Dionex). Os eluentes usados foram: eluente A - solução aquosa com NaOH (1,25 mM) e $Ba(OH)_2$ (2 mM); eluente B - solução aquosa com CH_3COONa (400 mM) e $Ba(OH)_2$ (2 mM); eluente C - solução aquosa com NaOH (500 mM) e $Ba(OH)_2$ (2 mM).

De forma a reduzir a acumulação de carbonato e contaminações biológicas, o eluente foi mantido sob nitrogénio. O volume injetado foi de 5 μ L, o caudal foi de 0,3 mL/min e a temperatura da coluna foi mantida a 35 ° C. O programa de eluição por gradiente utilizado foi: 0-19 min, 100 % A, aumentar para 50% B até 27 min e manter até 37 minutos. Aumentar para 40% C e diminuir para 0% B durante 47 minutos e manter até 57 minutos. O condicionamento da coluna foi efetuado usando 100%A (durante 15 min). O detetor amperométrico era constituído por um eléctrodo de trabalho em ouro, um eléctrodo de referência em prata/cloreto de prata e um eléctrodo auxiliar de titânio. O potencial aplicado foi de +0,1 V de 0,00 a 0,40 s, -2,0 V de 0,41 a 0,42 s, e uma rampa -2,0 a + 0,6 V de 0,42 para 0,43 s, seguido de -0,1 V de 0,44 a 0,50 s (fim do ciclo). A região de integração foi de 0,2 a 0,4 s.

O grau relativo de substituição foi calculado tendo em conta a proporção de glucose carboximetilada para picos de glucose (maior valor, maior grau de substituição). Todas as análises foram realizadas em triplicado.

O procedimento usado na utilização deste equipamento e o exemplo de cálculo do grau de substituição é apresentado no anexo B.

6.2.3 Análise sumária dos vinhos

Os parâmetros físico-químicos das amostras de vinho (pH, o teor alcoólico adquirido, a massa volúmica e a acidez total e volátil) foram determinados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), usando um equipamento da marca Bacchus μ (figura 6.1).



Figura 6.1. Equipamento Bacchus μ , instalado no laboratório da SAI.

As unidades aplicadas a cada parâmetro e a sua designação vai depender do software utilizado.

Este sistema baseia-se em calibrações analíticas, não sendo necessários reagentes próprios, nem preparação de amostras. A sua aplicação estende-se a todo o processo de vinificação.

A metodologia de análise por FTIR não é considerado um processo de análise absoluto, é um método analítico indireto. É necessário fazer calibrações específicas, para os diferentes tipos de vinho, tendo em atenção as diferentes matrizes em análise. A calibração analítica de todos os parâmetros tem como base todos os métodos analíticos clássicos, sendo que os resultados obtidos nesses métodos são usados como referência para a calibração do FTIR.

O valor analítico do parâmetro a determinar é alcançado através da aplicação de um algoritmo. O equipamento escolhe, para cada parâmetro, os comprimentos de onda que apresentam uma maior variação estatística em relação aos resultados analíticos de referência. A calibração compreende calcular coeficientes para cada comprimento de onda selecionado usando correlações matemáticas. Os comprimentos de onda de um espectro de

infravermelho (IV) de uma determinada amostra de vinho e as suas absorvâncias significativas permitem o cálculo dos resultados do FTIR, para cada parâmetro em análise [32].

O dióxido de enxofre livre foi determinado por titulação iodimétrica e o equipamento utilizado foi um analisador semi-automático, SO₂-Matic 23 da marca Crison. Este analisador baseia-se no método de Ripper automatizado para analisar a quantidade de SO₂ livre.

No vinho (pH 3 – 4) o dióxido de enxofre surge sob a forma de ião bissulfito (HSO₃⁻) em equilíbrio com uma pequena porção de SO₂ dissolvido. Estas formas de dióxido de enxofre são designadas por dióxido de enxofre livre.

Segundo o método de Ripper, a dosagem de dióxido de enxofre baseia-se na oxidação do SO₂ pelo iodo em meio ácido.

O procedimento usado na utilização destes equipamentos está descrito no anexo C.

6.2.4 Avaliação da estabilidade tartárica

A avaliação da estabilidade tartárica foi baseada na utilização do teste de mini-contacto, por meio do equipamento tartarcheck (figura 6.2).



Figura 6.2. Equipamento tartarcheck, instalado no laboratório da SAI.

O princípio analítico deste processo baseia-se na aceleração da precipitação de cristais de THK, presentes numa amostra de 25 mL de vinho (previamente filtrada), após arrefecimento até uma temperatura de 0 °C e adição de uma determinada quantidade em excesso de THK (aproximadamente 0,45 g). A amostra tem de estar com agitação constante e a quantidade de catiões é medida com base na condutividade elétrica do vinho antes e

depois da adição dos cristais de THK. Esta análise tem uma duração de 30 minutos e no final obtém-se como resultado uma diferença de condutividades.

A classificação do vinho relativamente à sua estabilidade baseia-se nos limites da variação da condutividade apresentados na tabela 6.3. Esta tabela foi disponibilizada pelo fornecedor do equipamento e baseia-se no método do tartarcheck.

Tabela 6.3. Determinação da estabilidade tartárica tendo em consideração os limites de diferença de condutividade para os diferentes vinhos.

Classificação da estabilidade do vinho	ΔC, $\mu S/cm$	
	Vinhos Brancos/ Rosados	Vinhos Tintos
Muito estável	Até 30	Até 40
Estável	30 – 50	40 – 60
Zona de Risco	50 - 70	60 - 80
Instável	A partir de 70	A partir de 80

Os limites apresentados na tabela 6.3 para vinhos tintos são superiores aos recomendados para vinhos brancos e rosados, tal facto é explicado, devido ao teor de potássio no vinho tinto ser superior ao presente no vinho branco e rosado. Os vinhos tintos apresentam maior quantidade deste ião devido à sua extração, durante a fase de maceração e ao poder inibidor dos polifenóis que impedem a precipitação do potássio.

6.2.5 Avaliação da estabilidade proteica

A avaliação da estabilidade proteica dos diferentes tipos de vinho, foi baseada no teste do calor, segundo o método modificado de Boulton (método interno). O princípio analítico deste processo, baseia-se na instabilidade das proteínas sob diversas condições, como por exemplo, o calor. Estes ensaios nem sempre permitem tirar conclusões semelhantes. Alguns deles conduzem a um risco de instabilidade durante a sua conservação e podem levar à aplicação de estabilizantes proteicos, em doses superiores às realmente necessárias para a prevenção desta instabilidade.

O aquecimento do vinho até cerca de 80 °C durante 30 min, em banho-maria, é um dos testes mais aplicáveis e fiáveis. A turvação aparece depois do arrefecimento da amostra.

Os vinhos são considerados estáveis durante a sua conservação, se a diferença da turbidez do vinho à temperatura ambiente e do vinho exposto ao banho térmico for inferior ou igual a 2 NTU.

A turbidez das amostras de vinho foi medida através de um turbidímetro da marca HANNA INSTRUMENTS, modelo HI83749. Todos os ensaios foram realizados em triplicado.

6.2.6 Avaliação da estabilidade corante

A avaliação da matéria corante foi baseada num teste rápido de estabilidade a frio, segundo um método interno. Este método consiste na exposição da amostra a temperaturas entre os 0 e os 4 °C durante 24h e verificar a formação e a quantidade de precipitado formado.

Um vinho é considerado instável a nível corante quando se evidencia esse precipitado.

6.2.7 Determinação das características cromáticas e do teor de polifenóis totais

As características cromáticas foram determinadas através de um espectrofotómetro Genesys 10 UV-VIS da marca THERMO SCIENTIFIC, de acordo com o método usual do OIV [33]. Este método permite determinar a intensidade da cor (equação 6.4) e a tonalidade da cor (equação 6.5) em vinhos tintos através das leituras das absorvâncias a 420, 520 e 620 nm. Para as diferentes análises recorreu-se ao uso de células de plástico com cerca de 10 mm de trajeto ótico. A medição da absorvância dos vinhos tintos a 420, 520 e 620 nm foi efetuada após a realização de uma diluição de 10 vezes das amostras.

$$\text{Int} = (A_{420} + A_{520} + A_{620}) \times \text{Diluição} \quad (6.4)$$

$$\text{Ton} = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad (6.5)$$

Para a obtenção do índice de polifenóis totais (IPT), a amostra é diluída 1/100 e é realizada a leitura do percurso ótico, numa célula de quartzo com espessura de 1mm, a 280 nm [33]. Para o cálculo do índice de polifenóis totais (IPT) aplica-se a equação seguinte:

$$\text{IPT} = A_{280} \times \text{Diluição} \quad (6.6)$$

Os exemplos de cálculo relativos à intensidade, tonalidade e índice de polifenóis totais estão descritos no anexo D.

6.3 Tratamento estatístico

Todos os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) usando o software STATISTIC 64 considerando-se o tratamento aplicado como causa de variação, e o teste de Tukey em nível de 5% significância ($p \leq 0,05$) [30].

Capítulo 7 . Resultados e Discussão

7.1. Caracterização das misturas de polissacarídeos

Com o objetivo de estudar e otimizar a performance das diferentes misturas em estudo, de goma arábica e carboximetilcelulose, começou-se por avaliar as interações e os parâmetros físico-químicos das diferentes soluções. A mistura de goma arábica e carboximetilcelulose foi efetuada em proporções iguais.

A caracterização das misturas para este estudo foi realizada através da determinação dos seguintes parâmetros físico-químicos: pH, cor, massa volúmica e turbidez.

Na tabela 7.1, apresentam-se os valores obtidos para os parâmetros em estudo.

Tabela 7.1. Características físico-químicas das diferentes misturas em estudo.

Designação	Especificação	pH	Cor(A)	Massa volúmica (g/mL)	Turbidez (NTU)
Mistura A	GA ₁ +CMC _a	3,57	0,325	1,080	146,00
Mistura B	GA ₁ +CMC _b	3,38	0,087	1,020	25,10
Mistura C	GA ₂ +CMC _a	3,85	0,259	1,110	65,57
Mistura D	GA ₂ +CMC _b	3,80	0,143	1,070	32,25
Mistura E	GA ₃ +CMC _a	3,80	0,165	1,060	66,70
Mistura F	GA ₃ +CMC _b	3,70	0,096	1,035	27,05

Através da caracterização físico-química das diferentes misturas, é possível constatar, que as soluções envolvendo o CMC_a apresentam os valores mais elevados nos parâmetros cor, massa volúmica e turbidez. Visualmente, no início, todas as soluções pareciam homogêneas.

Ao fim de 24 horas em repouso a temperatura constante (20 °C), verificou-se que as soluções com CMC_a começaram a apresentar separação de fases. Apurou-se ainda, que os valores do parâmetro da turbidez aumentaram consideravelmente nas misturas A, C e E, em que se usou este tipo de CMC.

A tabela 7.2, apresenta os valores de turbidez medidos ao fim de 24 h de repouso, e permite ter uma noção da espessura do filme formado.

Tabela 7.2. Valores de turbidez medidos ao fim de 24h e espessura do filme formado.

Designação	Turbidez (NTU)	Turbidez (NTU) 24h	Espessura do filme
Mistura A	146,00± 0,50 ^a	217,67± 1,25 ^b	+++
Mistura B	25,10± 0,00 ^a	25,33± 0,33 ^a	-
Mistura C	65,57± 0,00 ^a	83,87± 0,25 ^b	+
Mistura D	32,25± 0,25 ^a	30,50± 0,08 ^b	-
Mistura E	66,70± 0,20 ^a	107,00± 0,00 ^b	+++
Mistura F	27,05± 0,05 ^a	26,47± 0,05 ^b	-

Letras diferentes em cada linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0.05$), para cada tipo de vinho.

Através da análise da tabela 7.2, pode-se constatar que as soluções A, C e E apresentam valores de turbidez bastante diferentes dos apresentados inicialmente. As soluções B, D e F apresentam valores próximos, embora as misturas D e F tenham originado valores de turbidez estatisticamente diferentes. As misturas A e E são as que apresentam filmes com espessura mais elevada.

Este facto pode ser explicado, devido ao uso do CMC_a nas misturas A, C e E. Este tipo de CMC em comparação com o CMC_b apresenta maior peso molecular (como se pode confirmar posteriormente) o que pode levar a uma menor solubilização em mistura com as gomas em estudo.

De forma a perceber o comportamento das diferentes soluções perante temperaturas diferentes, decidiu-se expô-las a temperaturas de -2 e 30 °C, durante 20 dias, para avaliar as diferentes interações dos polissacarídeos, assim como, a ocorrência ou não de floculação.

A tabela 7.3, apresenta os valores de turbidez medidos após 20 dias de estudo.

Tabela 7.3. Valores de turbidez medidos ao fim de 20 dias e espessura do filme formado.

Designação	Turbidez (NTU) inicial	Turbidez (NTU) 30 °C	Turbidez (NTU) -2°C	Espessura do filme 30 °C	Espessura do filme -2 °C
Mistura A	217,67± 1,25 ^c	41,43± 0,09 ^a	131,33±0,47 ^b	+++	++++
Mistura B	25,33± 0,33 ^b	20,30± 0,00 ^a	34,97± 0,58 ^c	-	-
Mistura C	83,87± 0,25 ^b	53,27± 0,45 ^a	105,33±1,25 ^c	++	+++
Mistura D	30,50± 0,08 ^b	27,17± 0,39 ^a	35,13± 0,09 ^c	-	-
Mistura E	107,00± 0,00 ^c	93,50± 0,29 ^b	88,57± 0,62 ^a	+++	++++
Mistura F	26,47± 0,05 ^a	59,13± 0,62 ^c	32,70± 0,29 ^b	+	+

Letras diferentes em cada linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0.05$), para cada tipo de vinho.

Através da análise da tabela 7.3, pode-se constatar que as misturas A, C, E e F apresentam filmes suspensos na solução, para qualquer que seja o valor da temperatura a que foram expostas. Relativamente à espessura dos filmes, pode-se observar que quando as misturas estão expostas a baixas temperaturas, os filmes formados são maiores. Tal facto pode ser explicado devido a baixas temperaturas as misturas originarem mais facilmente precipitações e conseqüentemente, ficarem mais turvas.

Para valores de temperatura por volta dos 30 °C, verifica-se que as soluções se encontram mais límpidas que para temperaturas inferiores.

Como se pode verificar, nas misturas A, C, E, F houve formação de filmes, que inviabilizaram a aplicação destas misturas nos diferentes tipos de vinho. De entre as soluções em estudo pode-se constatar que as misturas B e D são as mais estáveis relativamente aos parâmetros avaliados.

7.2 Caracterização dos diferentes tipos de CMC

Para se tentar perceber as diferentes interações químicas nas misturas de polissacarídeos, decidiu-se caracterizar os diferentes tipos de CMC em estudo tendo em consideração o seu grau de substituição e polimerização.

Na tabela 7.4, resumem-se as características obtidas para os CMC em estudo. Os cálculos efetuados para a obtenção do peso molecular, encontram-se apresentados no anexo A e os cálculos relativos ao grau de substituição encontram-se resumidos no anexo B.

Tabela 7.4. Caracterização físico-química dos cinco CMCs utilizados neste estudo.

CMC	Peso Molecular (kDa)	Grau de Substituição (GS)
CMC_a	51 ± 6	0,55 ± 0,00
CMC_b	20 ± 4	0,77 ± 0,02
CMC_c	98 ± 6	1,05 ± 0,01
CMC_d	689 ± 22	1,05 ± 0,07
CMC_e	565 ± 19	0,64 ± 0,04

Tendo em consideração a equação de Mark Houwink a viscosidade do CMC é diretamente proporcional ao peso molecular do polímero e conseqüentemente, diretamente proporcional ao seu grau de polimerização, ou seja, quanto maior o peso molecular do CMC,

maior é a sua viscosidade e grau de polimerização. Logo, o CMC_a apresenta um maior grau de polimerização que o CMC_b em estudo.

Segundo a OIV, o peso molecular do CMC utilizado em enologia, deve estar compreendido entre 17 kDa e 300 kDa, que corresponde a um grau de polimerização de 80 a 1500. Considerando os valores da tabela 7.4, pode-se constatar que somente os CMC_a, CMC_b, CMC_c se encontram dentro destes limites, sendo que o CMC_b, apresenta menor peso molecular, logo menor viscosidade.

Relativamente ao grau de substituição, segundo a OIV, somente a carboximetilcelulose com grau de substituição compreendido entre 0,60 e 1,0 é completamente solúvel. Idealmente os valores mais apropriados estão compreendidos entre 0,60 e 0,95. Em relação a este parâmetro pode-se concluir que o CMC_b e o CMC_e são os que se encontram dentro destes limites. O CMC_a encontra-se ligeiramente abaixo deste limite, podendo, portanto, não ser completamente solúvel.

Através da análise dos diferentes CMC, pode-se concluir que o CMC_b é o que apresenta menor peso molecular e grau de substituição dentro dos limites ideais de solubilidade (0,77).

Relativamente ao aparecimento de filmes nas misturas com CMC_a, pode-se dever ao facto de este polímero ser menos solúvel que o CMC_b, por apresentar maior grau de polimerização (cadeia mais longa) e ser menos substituído.

7.3 Caracterização físico-química dos vinhos

A caracterização físico-química dos vinhos usados para este estudo foi realizada através da determinação do pH, teor alcoólico adquirido (%v/v), massa volúmica (g/mL), acidez total (g H₂T/L), acidez volátil (g CH₃COOH/L) e dióxido de enxofre livre (mg SO₂/L).

Para o presente estudo foram usados quatro vinhos brancos (V1, V2, V3 e V4), três vinhos rosados (V5, V6 e V7) e quatro vinhos tintos (V8, V9, V10 e V11).

A tabela 7.5, apresenta os resultados da análise sumária realizada aos vinhos em estudo. Esta análise tem como finalidade o conhecimento e a avaliação dos vinhos antes de estes serem expostos a qualquer tratamento [15].

Tabela 7.5. Resultados da análise sumária dos vinhos testemunha.

Vinho	pH	Teor alcoólico adquirido (%v/v)	Massa volúmica (g/mL)	Acidez total (gH₂T/L)	Acidez volátil (gCH₃COOH/L)	SO₂ Livre (mgSO₂/L)
V1	3,25	9,80	0,9917	5,30	0,28	21
V2	3,33	11,70	0,9907	7,10	0,20	30
V3	3,13	11,10	0,9906	7,60	0,22	38
V4	3,27	11,90	0,9893	6,60	0,27	23
V5	3,20	11,70	0,9902	7,40	0,43	16
V6	2,99	10,70	0,9932	8,70	0,22	18
V7	3,39	10,40	0,9928	6,00	0,36	11
V8	3,37	12,28	0,9932	6,78	0,45	28
V9	3,55	12,82	0,9928	6,47	0,37	15
V10	3,52	12,74	0,9929	6,48	0,37	18
V11	3,44	13,30	0,9903	5,86	0,41	14

Os resultados apresentados na tabela 7.5, relativos aos ensaios da análise físico-química dos vinhos, antes de sofrerem qualquer tratamento, encontram-se de acordo com os padrões de identidade e qualidade para os diferentes tipos de vinhos, apresentados na legislação.

7.4 Perfil da estabilidade dos vinhos

Um dos objetivos do presente trabalho foi avaliar a aplicação de aditivos enológicos (misturas de gomas com carboximetilcelulose) em amostras de vinho instáveis tartaricamente. Para tal, começou-se por realizar uma análise sumária aos diferentes vinhos e de seguida procedeu-se ao estudo das amostras a nível de instabilidade tartárica, proteica, corante e componentes da cor.

Como a goma GA₁, normalmente em enologia é aplicada em vinhos brancos e rosados, estudou-se a influência da aplicação da mistura B (GA₁+CMC_b) a nível tartárico e proteico. Relativamente à goma GA₂, devido às suas propriedades de estabilidade corante, geralmente o seu uso restringe-se aos vinhos tintos. Assim sendo, a adição da mistura D (GA₂+CMC_b) permitiu estudar a sua influência na instabilidade corante, tartárica e componentes da cor.

7.4.1 Estabilidade tartárica

Com o objetivo de analisar e otimizar as misturas em estudo em amostras de vinho instáveis tartaricamente, avaliou-se o poder estabilizante das várias soluções enológicas. Este estudo foi aplicado em vinhos brancos, rosados e tintos.

A estabilidade dos vinhos foi avaliada através do teste de mini-contacto (teste quantitativo), antes e após a introdução das misturas de goma arábica e carboximetilcelulose, para várias concentrações.

Os resultados da estabilidade tartárica apresentados, foram direcionados para a estabilidade relacionada com o THK, uma vez que, a adição deste tipo de cristais não induz a cristalização do CaT.

7.4.1.1 Determinação em vinhos brancos e rosados

Com o objetivo de se estudar a viabilidade da aplicação da mistura B em vinhos brancos e rosados, determinou-se a estabilidade tartárica para os vinhos testemunha (T) e para vinhos sujeitos a diferentes tipos de tratamento, tais como:

- Vinhos sujeitos a tratamento com 100 mL/hL(100 mg/L de CMC) de CMC_a (CMC_a);
- Vinhos sujeitos a tratamento com 100 mL/hL(100 mg/L de CMC) de CMC_b (CMC_b);
- Vinhos sujeitos a tratamento com 100 mL/hL (50 mg/L de CMC) da mistura B (MB1);
- Vinhos sujeitos a tratamento com 200 mL/hL(100 mg/L de CMC) da mistura B (MB2);
- Vinhos sujeitos a tratamento com 300 mL/hL(150 mg/L de CMC) da mistura B (MB3);
- Vinhos sujeitos a tratamento com 100 mL/hL de GA₁ (GA₁).

Os valores da variação da condutividade obtidos através do teste de mini-contacto, para os vinhos brancos (V1, V2, V3 e V4) e rosados (V5, V6 e V7), encontram-se apresentados na tabela 7.6.

Tabela 7.6. Valores da condutividade elétrica ΔC ($\mu\text{S/cm}$) para os vinhos brancos e rosados.

Vinhos	ΔC ($\mu\text{S/cm}$)						
	T	CMC_a	CMC_b	MB_1	MB_2	MB_3	GA_1
V1	75	15	23	24	27	20	56
V2	152	33	36	36	31	28	124
V3	108	24	22	27	21	17	56
V4	113	23	24	25	20	20	69
V5	135	24	24	26	23	23	104
V6	80	19	20	20	20	28	45
V7	168	27	32	40	30	31	139

Em relação à avaliação da estabilidade tartárica, segundo o método do tartarcheck, os vinhos são considerados instáveis tartaricamente quando ΔC ($\mu\text{S/cm}$) > 70, no entanto, quando ΔC ($\mu\text{S/cm}$) > 50 os vinhos brancos e rosados já se encontram na zona de risco. Assim, pode-se concluir através dos resultados apresentados na tabela 7.6, que:

- Todas as amostras testemunha em estudo encontravam-se instáveis, antes de sofrer qualquer tratamento;
- Todas as amostras expostas a 100 mL/ hL de CMC_a e CMC_b , conduziram a resultados estáveis, assim como, as amostras que sofreram tratamento com a mistura B em doses compreendidas entre 100 e 300 mL/hL;
- As amostras que foram tratadas com 100 mL/hL de GA_1 levaram a uma ligeira redução da condutividade dos vinhos, no entanto, esta redução não foi suficiente para os vinhos ficarem estáveis tartaricamente. Assim sendo, as amostras V1, V3, V4 e V6, encontram-se na zona de risco e as amostras V2, V5 e V7 continuaram instáveis.
- A utilização de GA_1 por si só não é suficiente para estabilizar os vinhos brancos e rosados, no entanto, em misturas com CMC_b os resultados conduzem a reduções de condutividades, melhorando este tipo de estabilidade.

Para uma melhor visualização dos resultados apresentados anteriormente, procedeu-se a uma representação gráfica dos valores encontrados (figuras 7.1 e 7.2).

Nas figuras 7.1 e 7.2 estão representados também os limites de estabilidade para estes dois tipos de vinhos.

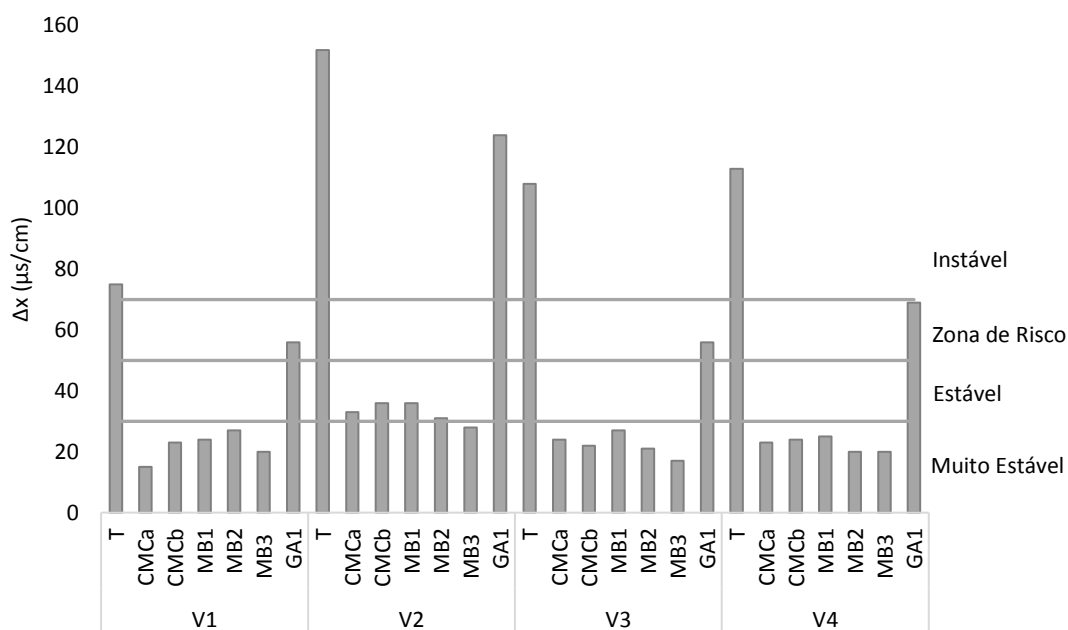


Figura 7.1. Resultados da estabilização tartárica pelo teste de mini-contacto para as amostras de vinho branco (V1, V2, V3 e V4).

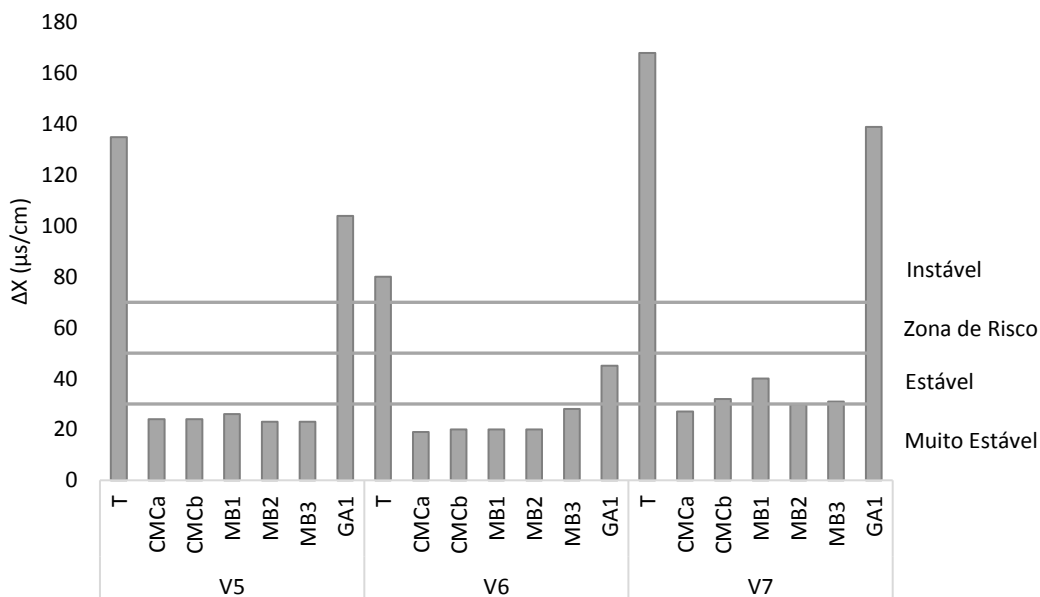


Figura 7.2. Resultados da estabilização tartárica pelo teste de mini-contacto para amostras de vinho rosado (V5, V6 e V7).

7.4.1.2 Determinação em vinhos tintos

Com o objetivo de se estudar a viabilidade da aplicação da mistura D em vinhos tintos, determinou-se a estabilidade tartárica para os vinhos tintos testemunha (T) e para vinhos sujeitos a diferentes tipos de tratamento, tais como:

- Vinhos sujeitos a tratamento com 50 mL/hL (50 mg/L de CMC) de CMC_a (CMC_a);
- Vinhos sujeitos a tratamento com 50 mL/hL (50 mg/L de CMC) de CMC_b (CMC_b);
- Vinhos sujeitos a tratamento com 100 mL/hL (50 mg/L de CMC) da mistura D (MD);
- Vinhos sujeitos a tratamento com 50 mL/hL de GA₂ (GA₂).

Os valores da variação da condutividade obtidos através do teste de mini-contacto, para os vinhos tintos, encontram-se representados na tabela 7.7.

Tabela 7.7. Valores da condutividade elétrica ΔC ($\mu\text{S/cm}$) para vinho tintos.

ΔC ($\mu\text{S/cm}$)					
Vinhos	T	CMC _a	CMC _b	MD	GA ₂
V8	75	41	41	43	69
V9	68	34	40	35	68
V10	64	36	38	33	62
V11	83	39	35	32	76

Em relação à avaliação da estabilidade tartárica segundo o método do tartarcheck, os vinhos são considerados instáveis tartaricamente quando ΔC ($\mu\text{S/cm}$) > 80, no entanto, quando ΔC ($\mu\text{S/cm}$) > 60 os vinhos tintos já se encontram na zona de risco. Assim, pode-se concluir através dos resultados apresentados na tabela 7.7, que:

- Todas as amostras testemunha em estudo encontravam-se na zona de risco, exceto V11, que se encontrava instável tartaricamente;
- Todas as amostras que sofreram tratamento através da adição de 50 mL/hL de CMC_a e CMC_b, conduziram a resultados favoráveis a nível tartárico.
- As amostras expostas a 50 mL/hL de GA₂ não contribuíram significativamente para a redução da condutividade elétrica das amostras de vinho, pelo que, esta goma não é adequada para ajudar na estabilidade tartárica;
- As amostras tratadas com 100 mL/hL da mistura D, conduziram à estabilidade dos vinhos testemunha.

Para uma melhor visualização dos resultados apresentados anteriormente, procedeu-se a uma representação gráfica dos valores encontrados (figura 7.3).

Na figura 7.3, estão representados também os limites de estabilidade para o vinho tinto.

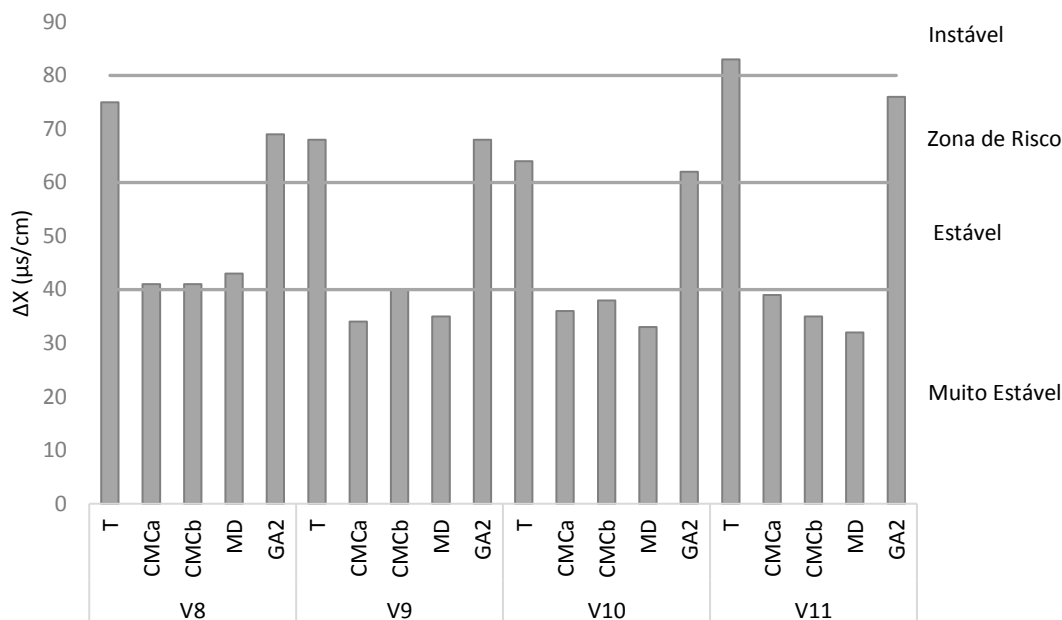


Figura 7.3. Resultados da estabilização tartárica pelo teste de mini-contacto para as amostras de vinho tinto (V8, V9, V10 e V11).

7.4.2 Estabilidade proteica

As proteínas dos vinhos podem causar instabilidade físico-química, dependendo das suas características estruturais e das circunstâncias a que estes vinhos estão sujeitos. São vários os fatores que podem tornar o vinho turvo, como consequência da instabilização das proteínas, de entre os quais se destacam, a temperatura, metais, oxigenação, presença de taninos, alteração do pH e modificação do estado de solvatação coloidal das partículas.

Os valores da variação da turbidez medidos antes e depois dos vinhos serem expostos ao banho térmico, encontram-se representados na tabela 7.8. Para os vinhos serem estáveis proteicamente esta diferença tem de ser inferior a 2. O método usado para a determinação deste tipo de estabilidade é o método modificado de Boulton (método interno).

Tabela 7.8. Valores da variação da turbidez (NTU), segundo o teste de calor, para vinhos brancos e rosados.

Vinhos	T	CMC _a	CMC _b	MB ₁	MB ₂	MB ₃	GA ₁
V1	0,02	0,13	0,15	0,06	0,06	0,07	0,03
V2	0,05	0,52	0,48	0,23	0,38	0,42	0,19
V3	0,05	0,30	0,28	0,20	0,22	0,28	0,07
V4	0,17	9,60	9,32	8,48	9,36	9,60	3,87
V5	0,03	0,10	0,09	0,05	0,06	0,07	0,03
V6	0,14	2,62	1,78	1,22	1,63	1,81	0,48
V7	0,03	0,70	0,51	0,07	0,30	0,02	0,15

No que respeita a avaliação da estabilidade proteica, segundo o método modificado de Boulton, os vinhos são considerados instáveis se a diferença da turbidez antes e depois da amostra ser exposta ao banho térmico for superior a 2. Assim, pode-se concluir através dos resultados apresentados na tabela 7.8, que:

- Todas as amostras testemunhas são estáveis a nível proteico;
- Quando é adicionado, às amostras, 100 mL/hL de CMC_a ou CMC_b, estas têm tendência para aumentar a diferença na sua turbidez e, conseqüentemente, tendem para uma instabilidade proteica; O vinho branco, V4, é o único instável a nível proteico com a aplicação de todos os CMC, mistura e goma, no entanto o V6, também ficou ligeiramente instável com o tratamento do CMC_a.
- Relativamente ao estudo da influência da adição da goma verifica-se que para o V1 e V5, esta não interferiu na instabilidade proteica. Para as restantes amostras (V2, V3, V4, V6 e V7) verificou-se um aumento do intervalo de turbidez, quando comparado com o vinho testemunha. Tais resultados, não são os esperados no perfil destas gomas, visto que deviam contribuir para a melhoria da estabilidade proteica e não conduzir a uma instabilidade.
- Quando são adicionadas, às amostras, a mistura D com quantidades que variam entre 100 e 300 mL/hL verifica-se que também existe a tendência para aumentar a diferença de turbidez, sendo que quanto maior a quantidade adicionada, maior a diferença da turbidez.
- Em misturas a goma GA₁, apresenta resultados interessantes, porque permite baixar a variação de turbidez, comparativamente ao uso individual da carboximetilcelulose.

Para uma melhor visualização dos resultados apresentados anteriormente, procedeu-se a uma representação gráfica dos valores obtidos (figuras 7.4 e 7.5).

Nas figuras 7.4 e 7.5 esta representado também o limite de estabilidade proteica.

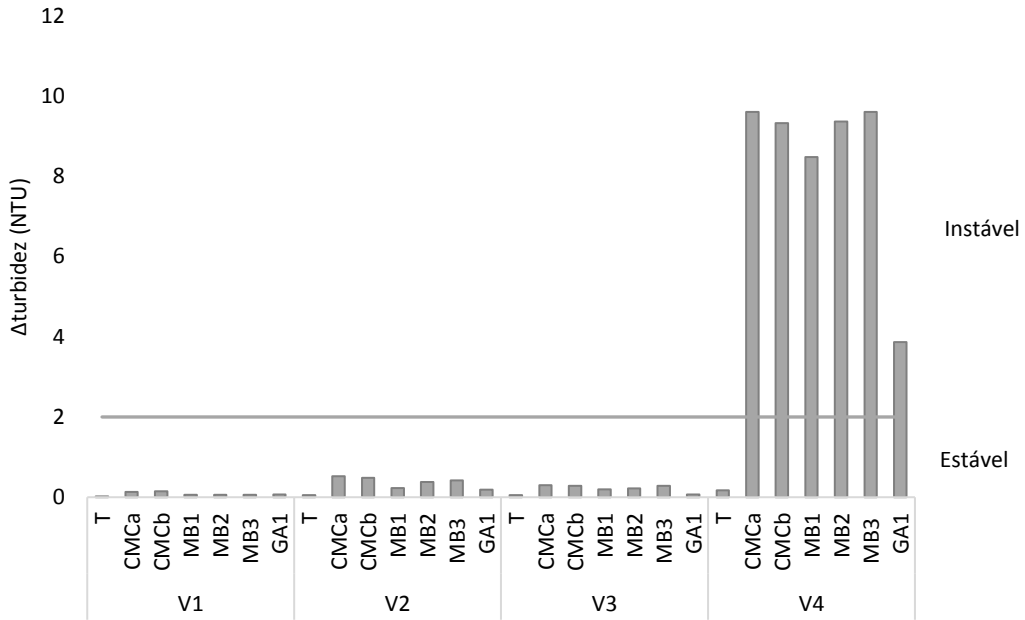


Figura 7.4. Resultados da estabilização proteica pelo teste de calor, para as amostras de vinho branco (V1, V2, V3 e V4).

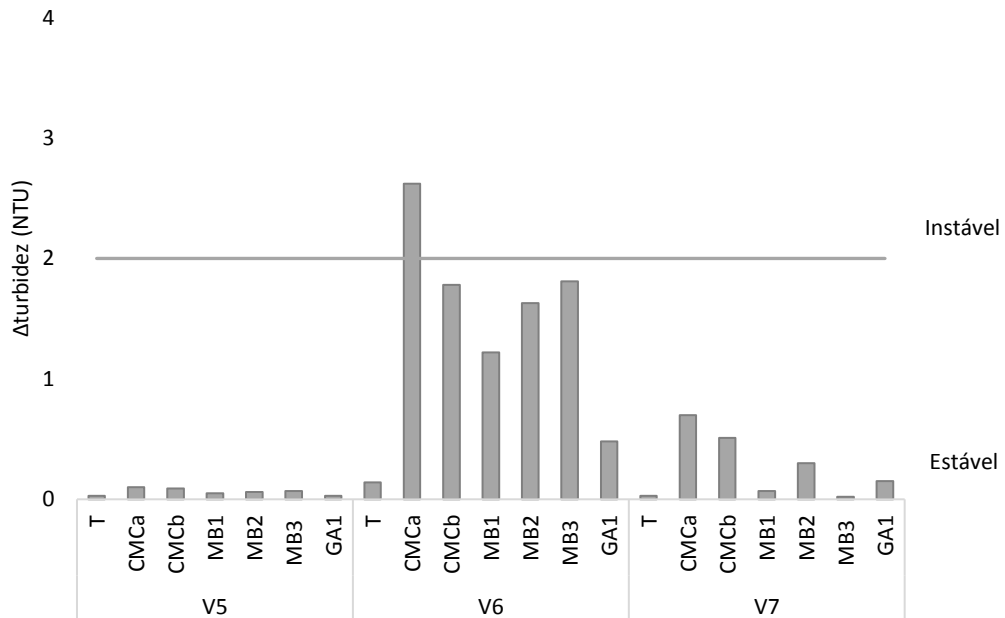


Figura 7.5. Resultados da estabilização proteica pelo teste de calor, para as amostras de vinho rosado (V5, V6 e V7).

7.4.3 Estabilidade corante

As substâncias que conferem cor ao vinho abrangem um largo conjunto de compostos fenólicos. Estes compostos são muito reativos e podem levar à formação de compostos com massas moleculares maiores (polímeros), que tendem a precipitar e conduzir os vinhos para uma instabilidade a nível corante [16].

Para avaliar a influência da estabilidade corante através da adição dos diferentes aditivos enológicos, recorreu-se a um teste que se baseia na exposição das diferentes amostras de vinho a baixas temperaturas num período de tempo de aproximadamente 24 h (método interno). As amostras são instáveis a nível corante se for possível observar visualmente a existência de precipitados.

A tabela 7.9, pretende dar a conhecer a estabilidade dos vinhos tintos, através da visualização da quantidade de precipitado formado.

Tabela 7.9. Análise da existência de precipitados nas amostras de vinho tinto.

Vinhos	T	CMC_a	CMC_b	MD	GA₂
V8	+	+++	+	+	+++
V9	+	+++++	++	++++	+++
V10	+	++++	+	++++	++
V11	-	+	+	+	+

Genericamente, sabe-se que os compostos fenólicos do vinho tinto têm tendência para interagir com a carboximetilcelulose e levar à precipitação de matéria corante. A goma arábica é utilizada, geralmente, nos vinhos tintos para abrandar os fenómenos de polimerização e a precipitação da matéria corante [26].

Tendo em consideração a informação da tabela 7.9, pode-se concluir relativamente a este parâmetro que:

- Todos os vinhos testemunha, com exceção do vinho V11, são instáveis a nível corante;
- Quando se adiciona 50 mL/hL de CMC_a e CMC_b a quantidade de precipitado verificado visualmente aumenta, como era de prever, visto que a carboximetilcelulose interage com a matéria corante, e conduz à sua precipitação. O CMC_b apresenta para o vinho V8, V10 e V11, menores quantidades de precipitado;
- Relativamente à goma utilizada (GA₂) os resultados não foram os esperados, porque esta substância é utilizada em enologia para melhorar este tipo de

estabilidade, e tal não se verificou. A única explicação encontrada é que sendo esta goma uma mistura complexa de polissacarídeos e de glicoproteínas, a sua composição não é constante, variando consoante os lotes e origens. Assim, o seu uso pode apresentar consequências negativas em determinadas situações, como neste estudo, em que se pretende obter produtos com elevada homogeneidade e sempre com as mesmas características físico-químicas;

- Quando se adiciona 100 mL/hL da mistura D, verifica-se também que todos os vinhos se encontram instáveis a nível corante. Os vinhos V9 e V10 apresentaram um comportamento que não era o esperado, comparativamente à adição individual de 50 mL/hL de CMC_b e GA₂.
- Quanto à estabilidade corante, o que se previa era que a carboximetilcelulose aumentasse esta instabilidade, ou seja, apresentasse maior quantidade de precipitados, e que a goma arábica apresentasse resultados mais favoráveis relativamente a este parâmetro. Tendo em conta os resultados obtidos a nível experimental pode-se concluir que a goma GA₂ não apresentou o resultado esperado e que a mistura D tem tendência a aumentar a instabilidade corante.

7.5. Componentes da cor

A cor nos vinhos é uma particularidade sensorial, relacionada principalmente com os seus compostos fenólicos. É um parâmetro que interfere na qualidade dos vinhos e pode variar de acordo com as características das uvas, com as técnicas de vinificação e com as diversas reações que ocorrem durante o seu armazenamento.

O estudo da cor foi mais aprofundado para vinhos tintos, devido à reatividade dos seus compostos fenólicos. A cor neste tipo de vinhos está intimamente dependente das características físico-químicas dos pigmentos e do meio onde estes se encontram.

A intensidade, a tonalidade e o índice de polifenóis totais podem dar informação sobre a qualidade ou defeitos de um vinho.

7.5.1 Intensidade da cor

Glories em 1984, propôs que a intensidade da cor dos vinhos fosse definida pela soma das absorvâncias a 420, 520 e 620 nm.

A tabela 7.10, apresenta os resultados obtidos para a intensidade da cor nos vinhos tintos. Todos os cálculos efetuados estão exemplificados no Anexo D.

Tabela 7.10. Valores da intensidade da cor em vinhos tintos.

Vinhos	T	CMC _a	CMC _b	MD	GA ₂
V8	18,13 ± 0,01 ^b	22,13 ± 0,01 ^e	21,22 ± 0,00 ^d	17,83 ± 0,01 ^a	18,31 ± 0,01 ^c
V9	20,86 ± 0,01 ^a	21,48 ± 0,01 ^e	21,22 ± 0,02 ^d	20,95 ± 0,01 ^b	21,16 ± 0,01 ^c
V10	20,88 ± 0,01 ^c	21,93 ± 0,00 ^d	22,18 ± 0,00 ^e	20,68 ± 0,01 ^a	20,76 ± 0,01 ^b
V11	13,79 ± 0,01 ^a	15,43 ± 0,01 ^e	14,81 ± 0,01 ^d	14,37 ± 0,01 ^c	14,09 ± 0,01 ^b

Letras diferentes em cada linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0.05$), para cada tipo de vinho.

Em relação aos valores apresentados na tabela 7.10, relativos à intensidade da cor em vinhos tintos, pode-se constatar que a adição do CMC_a e CMC_b aumenta ligeiramente a intensidade da cor. Tal facto pode ser explicado devido à carboximetilcelulose, interagir com os polifenóis em geral e com as antocianinas em particular, no vinho tinto, causando uma alteração na intensidade da cor, nomeadamente um aumento de turbidez que pode afetar a medição da absorvância.

7.5.2 Tonalidade

A tabela 7.11, apresenta os resultados determinados para a tonalidade em vinhos tintos. Todos os cálculos efetuados estão exemplificados no Anexo D.

Tabela 7.11. Valores da tonalidade em vinhos tintos.

Vinhos	T	CMC _a	CMC _b	MD	GA ₂
V8	0,597 ± 0,001 ^b	0,545 ± 0,001 ^a	0,599 ± 0,000 ^c	0,601 ± 0,001 ^c	0,600 ± 0,000 ^c
V9	0,611 ± 0,001 ^a	0,622 ± 0,001 ^c	0,612 ± 0,000 ^a	0,618 ± 0,000 ^b	0,620 ± 0,001 ^b
V10	0,615 ± 0,000 ^b	0,622 ± 0,001 ^d	0,623 ± 0,001 ^d	0,618 ± 0,000 ^c	0,612 ± 0,000 ^a
V11	0,655 ± 0,001 ^a	0,657 ± 0,001 ^{a,b}	0,659 ± 0,001 ^b	0,655 ± 0,001 ^a	0,656 ± 0,001 ^{a,b}

Letras diferentes em cada linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0.05$), para cada tipo de vinho.

A tonalidade é dada pela relação das absorvâncias 420/520 nm. Pela análise da tabela 7.11, pode-se constatar que existem algumas variações no valor de tonalidade o que parece indicar que as misturas utilizadas influenciam este parâmetro.

7.5.3 Índice de polifenóis totais

A tabela 7.12, apresenta o índice de polifenóis totais para os diferentes vinhos tintos. Todos os cálculos efetuados estão exemplificados no Anexo D.

Tabela 7.12. Teor de polifenóis totais em vinhos tintos.

Vinhos	T	CMC_a	CMC_b	MD	GA₂
V8	69,15± 0,04 ^a	70,05± 0,04 ^c	69,93± 0,08 ^c	69,60± 0,05 ^b	69,60± 0,05 ^b
V9	77,85± 0,02 ^d	77,52± 0,05 ^c	78,44± 0,04 ^e	75,45± 0,04 ^a	76,74± 0,06 ^b
V10	77,79± 0,05 ^a	79,59± 0,00 ^e	78,27± 0,05 ^c	78,51± 0,00 ^d	78,00± 0,05 ^b
V11	47,28± 0,01 ^a	49,08± 0,05 ^b	49,83± 0,00 ^d	49,38± 0,01 ^c	49,26± 0,06 ^c

Letras diferentes em cada linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0.05$), para cada tipo de vinho.

O índice de polifenóis total (IPT) é dado pela medição da absorbância a 280 nm. Pela análise da tabela 7.12, podem-se observar pequenas variações no índice de polifenóis totais aquando da adição da mistura D (MD), carboximetilcelulose (CMC_a e CMC_b) e goma arábica (GA₂). Assim, pode-se concluir que a adição destas substâncias, ao vinho, influencia o teor de substâncias poliméricas e consequentemente o valor daquele parâmetro.

Capítulo 8 . Conclusões

O objeto deste trabalho foi preparar soluções aquosas de diferentes CMCs com o objetivo de verificar qual o intervalo de peso molecular e grau de substituição mais indicado para preparar misturas de CMC com goma arábica e avaliar o efeito destas soluções na estabilidade tartárica.

As diversas tarefas realizadas para se conseguir atingir os objetivos propostos, permitiram tirar diversas conclusões que são apresentadas de seguida.

Os CMCs caracterizados apresentam peso molecular e graus de substituição diferentes.

O CMC_a e o CMC_b foram os que apresentaram grau de substituição e peso molecular mais baixos. O CMC_b em comparação com o CMC_a, apresenta menor peso molecular e maior grau de substituição. Sendo que o CMC_b apresenta peso molecular de 20 kDa e grau de substituição de 0,77, enquanto o CMC_a apresenta peso molecular de 51 kDa e grau de substituição de 0,55.

Os restantes CMCs apresentam elevados pesos moleculares, e as suas soluções líquidas obtidas pelos mesmos, apresentam elevada viscosidade e difícil dissolução, apesar de apresentarem graus de substituição elevados.

O CMC_b foi o único CMC a partir do qual foi possível preparar uma solução líquida de goma arábica e CMC sem produção de filme e variação de turbidez.

Os dois CMCs (CMC_a e CMC_b) apresentam idêntica capacidade estabilizante tartárica, evidenciada pelos decréscimos significativos de condutividade no teste de mini-contacto.

O CMC_b apresenta capacidade estabilizante tartárica mesmo na mistura B quando aplicado em vinhos brancos e rosados, no entanto, provoca um aumento da instabilidade proteica. O que seria de esperar face à interação da carboximetilcelulose com as proteínas do vinho.

O CMC_b na mistura D quando aplicada em vinhos tintos apresenta poder de estabilização tartárica, mas não apresenta poder de estabilização de matéria corante.

Sugestões de melhoria para trabalhos futuros

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

- A caracterização das gomas arábicas utilizadas, quanto ao seu peso molecular e quanto à sua composição em açúcares. É fundamental estudar estas soluções de polissacarídeos de origem vegetal, relativamente a estes parâmetros que são essenciais para se perceber melhor o comportamento das misturas analisadas.
- A caracterização da carboximetilcelulose em relação à concentração dos seus íons metálicos, como o potássio, sódio, cálcio e magnésio.
- Dada a incoerência dos resultados a nível da estabilidade corante para a goma GA₂, seria vantajoso perceber a inconsistência desses resultados e avaliar a performance de outros lotes desta goma em outros vinhos tintos.
- Investigar o uso das diferentes misturas na estabilidade tartárica dos vinhos, em relação ao tartarato neutro de cálcio.
- Realizar análises sensoriais aos vinhos tratados para avaliar o impacto do uso das diferentes misturas, sobre determinadas características, tais como o volume de boca, acidez, doçura e intensidade aromática.

Referências

- [1] SAI- Segurança Alimentar Integrada, Lda. Disponível em <http://www.sai.com.pt/acerca.php?grupo=1> (acedido em 17 de abril de 2017).
- [2] Rosado, A.R.S. (setembro,2013) *Parâmetros Físicos, Químicos e Controlo Microbiológico em vinhos brancos, e tintos da adega cooperativa de Palmela*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar, Universidade Nova de Lisboa, 94 pgs.
- [3] Instituto da Vinha e do Vinho (2016) *Evolução da Produção Mundial de Vinho*. Disponível em <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/36/> (acedido em 20 de junho de 2017).
- [4] Climaco, P., Silva, J.R., Laureano, O., Castro, R., Tonietto, J. (2012) *O Clima das Principais Regiões Produtoras de Uvas para Vinho de Portugal*.
- [5] Instituto da Vinha e do Vinho (2016) *Evolução da Produção Nacional de Vinho por Região Vitivinícola*. Disponível em <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/36/> (acedido em 20 de junho de 2017).
- [6] Instituto da Vinha e do Vinho (2016) *Evolução do Consumo Mundial de Vinho*. Disponível em <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/39/> (acedido em 20 de junho de 2017).
- [7] *Portugal é o país com maior consumo de vinho por habitante em 2016*. Disponível em <http://24.sapo.pt/vida/artigos/portugal-e-o-pais-com-o-maior-consumo-de-vinho-por-habitante-em-2016> (acedido em 20 de junho de 2017).
- [8] Mercados & Estratégias. *Exportação e Importação de Vinhos Portugueses: Entrevista a Jorge Monteiro, Presidente da ViniPortugal*. Disponível em <http://www.mercadoseestrategias.com/news/exportacao-e-importacao-de-vinhos-portugueses-entrevistamos-jorge-monteiro-presidente-da-viniportugal/> (acedido em 20 de junho de 2017).
- [9] Grainger, K. at Tattersall,H.(2008) *Wine Production: Vine to Bottle*. E-book, Wiley-Blackwell ,152 pgs.
- [10] Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A.(2006). Handbook of Enology,Volume 1, The Microbiology of Wine and Vinifications ,2 nd edition, John Wiley & Sons, Ltd.
- [11] Ribeiro, F. *Estabilização tartárica de vinhos com carboximetilcelulose (CMC), em vinhos de diferentes origens geográficas*. (versão PDF do documento descarregado em 20 de abril de 2017 de <http://www.sai.com.pt/upload/20151112130454.pdf>).

- [12] Ough, C.S. (1996) *Tratado Básico de Enologia*, Editorial Acribia, S.A.
- [13] Vinha (20 de maio de 2016). Disponível em <https://www.vinha.pt/como-se-fazem-vinhos-roses/>(acessido em 20 de abril de 2017).
- [14] Andrade, M.J.C. (junho de 2012) *Estabilização Tartárica de Vinhos Tintos por Combinação de Nanofiltração e Permuta Catiónica*. Tese para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia do Vinho, Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa,76 pgs.
- [15] Simões, M. (2014) *Estabilidade tartárica em Vinhos*. Dissertação de Mestrado em Viticultura e Enologia, Universidade de Évora,132 pgs.
- [16] Ferreira, S.R.R (2014) *Estabilização tartárica do vinho por adição da carboximetilcelulose*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, Departamento de Química, Universidade de Aveiro,104 pgs.
- [17] Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., Nury, F.S. (1995). *Wine Analysis and Production*. Springer Science+Business Media, LLC.
- [18] Ribeiro, T.I.M. (2012). *Estabilização proteica de vinhos: avaliação de alternativas para minimizar a aplicação de bentonite*. Dissertação para obtenção de Grau Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar, Instituto Politécnico de Bragança,110 pgs.
- [19] Jorge M., Silva, R., Sousa, I., Laureano, O. Fatores condicionantes dos processos de vinificação e conservação na cor de vinhos portugueses (versão PDF do documento descarregado em 27 de junho de 2017).
- [20] SAI- Segurança Alimentar Integrada, Lda. Goma arábica filtrada e purificada. (versão PDF do documento descarregado em 19 de abril de 2017 de <http://www.sai.com.pt/upload/20140519192343.pdf>).
- [21] Esquema de un equipo de estabilización en continuo. Disponível em <https://www.google.pt/search?tbm=isch&q=+Sistema+VINIPAL&imgrc=3wmuXXyxMI08aM:&cad=h> (acedido em 4 de julho de 2017).
- [22] *A Electrodialise na Estabilidade Tartárica dos Vinhos- Comparação com o Método Clássico*. (versão PDF do documento descarregado em 21 de setembro de 2017).
- [23] Carvalheira, J.A instabilidade tartárica dos vinhos e a conseqüente necessidade de estabilização tartárica. (versão PDF do documento descarregado em 21 de setembro de 2017 de http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/geral/files/instabilidade_tartarica_57.pdf).

- [24] Amorim, L.V., Gomes, C.M., Silva, F.L.H., França, K.B., Lira, H.L., Ferreira, H.C. . *Electrodialysis uses in Paraíba bentonite clay dispersions to eliminate Ca^{2+} and Mg^{2+} and its influence on rheology.* Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-69132005000300005 (acedido a 5 de agosto de 2017).
- [25] SAI- Segurança Alimentar Integrada, Lda. Ácido Metatartárico. (versão PDF do documento descarregado em 23 de setembro de 2017 de <http://www.sai.com.pt/upload/20130710153542.pdf>).
- [26] SAI- Segurança Alimentar Integrada, Lda. Goma Arábica. (versão PDF do documento descarregado em 19 de abril de 2017 de <http://www.sai.com.pt/upload/20140519192343.pdf>).
- [27] Adega (16 de maio de 2007) *Um protetor natural dos vinhos.* Disponível em http://revistaadega.uol.com.br/artigo/um-protetor-natural-dos-vinhos_7016.htm (acedido em 23 de setembro de 2017).
- [28] Ribeiro, F. (2013) *Vinificação, 1º ciclo de Enologia.* (Versão PDF do documento descarregado em 18 de abril de 2017).
- [29] SAI- Segurança Alimentar Integrada, Lda. Estabilização tartárica. (versão PDF do documento descarregado em 19 de abril de 2017 de <http://www.sai.com.pt/upload/20140130220002.pdf>).
- [30] Guise, R., Ribeiro, L.F., Nascimento, D., Bessa, O., Nunes, F.M., Cosme, F. (2014) *Comparison between different types of carboxymethylcellulose and other oenological additives used for white wine tartaric stabilization,* Elsevier.
- [31] Legislação OIV (2009) .*Carboxymethylcellulose.* (versão PDF do documento descarregado em 23 de setembro de 2017).
- [32] Correia, A.C.C (2011). Espectroscopia de infravermelho na análise de mostos e vinhos, Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Química Analítica e Qualidade, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 73 pgs.
- [33] OIV (2009). Chromatic Characteristics (versão PDF do documento descarregado em 15 de setembro de 2017 de <http://www.oiv.int/public/medias/2475/oiv-ma-as2-07b.pdf>).

Anexo A - Determinação do peso molecular

Segundo o método de Gómez-Díaz e Navaza, começa-se por preparar inicialmente a solução que vai servir de solvente nas soluções de carboximetilcelulose. Este solvente é uma solução de NaCl 0,1 M.

Seguidamente preparam-se as várias soluções com CMC, cuja concentração vai depender da viscosidade de cada soluto. Para soluções de baixa viscosidade preparam-se concentrações maiores do que para soluções de alta viscosidade.

No viscosímetro de Ubbelohde ASTM D2515 capilar, com a ajuda de um cronómetro, mede-se o tempo de escoamento de cada solução começando-se pelo ensaio com o branco (solução de NaCl 0,1 M). Realizam-se três leituras para cada amostra.

A1. Exemplo de cálculo para a determinação do peso molecular

Para a determinação do peso molecular dos diferentes CMC em estudo mediu-se o tempo de escoamento de cada solução começando pelo ensaio do branco.

A viscosidade relativa ($\mu_{relativa}$), segundo este método, calcula-se através do tempo de escoamento do CMC para cada concentração (t_{CMC}), e o tempo de escoamento do branco (t_{NaCl}), como se pode verificar pela equação A.1:

$$\mu_{relativa} = \frac{t_{CMC}}{t_{NaCl}} \quad (A.1)$$

A viscosidade específica ($\mu_{especifica}$), segundo este método, calcula-se através do tempo de escoamento do CMC para cada concentração (t_{CMC}) e o tempo de escoamento do branco (t_{NaCl}) como se pode verificar pela seguinte equação:

$$\mu_{especifica} = \frac{t_{CMC} - t_{NaCl}}{t_{NaCl}} \quad (A.2)$$

A viscosidade inerente ($\mu_{inerente}$), é calculada com base na viscosidade relativa e na concentração (c), de acordo com a equação A.3:

$$\mu_{inerente} = \frac{\ln(\mu_{relativa})}{c} \quad (A.3)$$

A viscosidade reduzida ($\mu_{reduzida}$) é calculada a partir da viscosidade específica, de acordo com a equação A.4:

$$\mu_{reduzida} = \frac{\mu_{especifica}}{c} \quad (A.4)$$

A tabela A.1, apresenta a concentração das soluções de CMC_b, a média do tempo de escoamento medido em segundos e os valores obtidos para a determinação da viscosidade relativa e específica.

Tabela A.1. Dados e valores calculados para a determinação da viscosidade intrínseca.

Ensaio	CMC (g/L)	Tempo (s)	$\mu_{relativa}$	$\mu_{especifica}$
1	0	208	-	-
2	1	210	1,01	0,0112
3	2	214	1,03	0,0272
4	4	222	1,07	0,0657
5	5	227	1,09	0,0897

Segundo este método a viscosidade intrínseca é calculada por extrapolação da viscosidade reduzida e inerente versus a concentração dos CMCs em estudo (figura A.1).

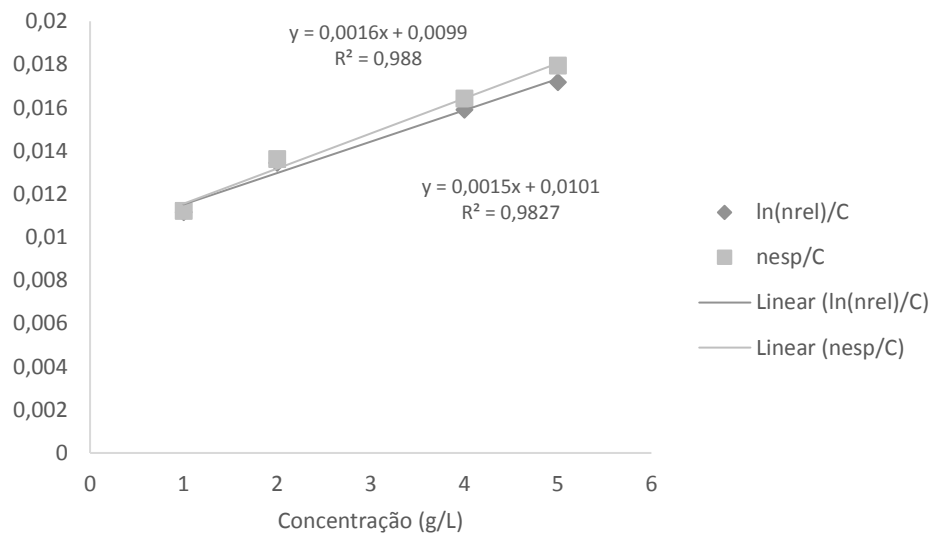


Figura A.1. Viscosidade reduzida e viscosidade inerente versus a concentração dos CMCs em estudo.

Os dados apresentados na figura A.1, permitiram determinar a viscosidade intrínseca, recorrendo à média das duas ordenadas na origem:

$$[\mu] = [\mu_{reduzida}]_{c \rightarrow 0} \quad (A.5)$$

$$[\mu] = [\mu_{inerente}]_{c \rightarrow 0} \quad (A.6)$$

Através da viscosidade intrínseca, pode-se obter o valor do peso molecular dos CMCs recorrendo à seguinte equação de Mark Houwink (equação A.7):

Em que: $K=0,00123$
 $a=0,91$

$$[\mu] = K \times PM^a \tag{A.7}$$
$$PM = \frac{[\mu]^{\frac{1}{a}}}{K}$$

No caso do CMC_b, obteve-se um peso molecular de 20 kDa .

Anexo B - Determinação do grau de substituição do CMC

A quantidade relativa de glucose e glucose carboximetilada foi determinada segundo o método modificado por Damlin, Makkola e Salmi.

Inicialmente, realizou-se uma hidrólise ácida. Esta hidrólise compreende a adição de 2 mL de ácido sulfúrico a 10 mg de cada tipo de CMC e na exposição das amostras a 100°C durante 2,5 h.

As amostras foram analisadas por cromatografia líquida, recorrendo ao HPLC UltiMate 3000, da Dionex, com um detetor de fotodíodos PDA-100, da Dionex.

Foram realizadas três leituras para cada ensaio.

B1. Exemplo de cálculo para a determinação do grau de substituição do CMC

O cálculo do grau de substituição baseia-se no método modificado por Damlin, Makkola e Salmi. Utilizou-se como exemplo de cálculo os dados referentes ao CMC_b.

A figura B.1, apresenta o cromatograma obtido para o CMC_b, que relaciona a absorbância com o tempo.

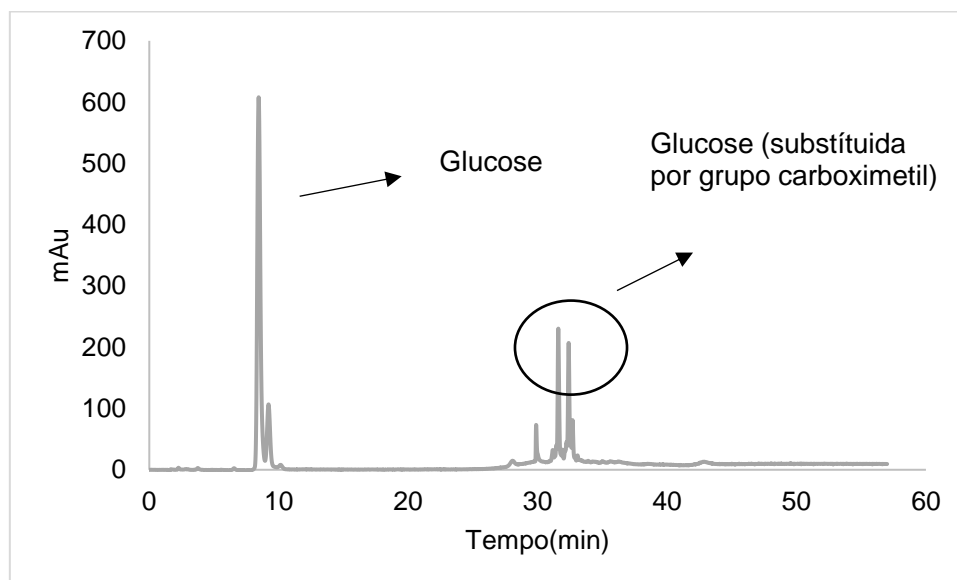


Figura B.1. Cromatograma obtido para o CMC_b, absorbância versus tempo.

O cálculo do grau de substituição baseia na equação B.1:

$$GS = \frac{\text{Área da Glucose substituída}}{\text{Área da Glucose}} \quad (\text{B.1})$$

Para o CMC_b, foi obtido, segundo este método, um grau de substituição de 0,77.

Anexo C - Determinação da análise sumária dos vinhos

C1. Determinação por FTIR

Logo após o equipamento e o software serem iniciados deve ser realizada a calibração do branco ótico como aconselhado no manual do equipamento, Bacchus μ . Quando a calibração termina e se confirma a não existência de interferências, podem começar a realizar-se as análises previstas.

A análise das amostras de vinho é individual. Para tal, começa-se por verificar se os vinhos apresentam gás, no caso de existir, é recomendado agitar as amostras recorrendo a uma placa de agitação. É importante a remoção deste gás, pois este interfere nos ciclos de leitura do equipamento Bachus.

As amostras são então colocadas em tubos apropriados ao equipamento e são levadas ao local de sucção da amostra. Atribui-se a designação da amostra no software e inicia-se as análises.

No final de cada análise, o tubo de ensaio é retirado e pode-se iniciar um novo ciclo, sendo importante verificar o nível da solução de Titron X100, essencial para o funcionamento deste equipamento, pois é responsável pelo seu auto-zero.

No final dos testes realizados diariamente o equipamento era lavado com água desionizada e solução de lavagem para se poder desligar corretamente.

C2. Determinação do Dióxido de Enxofre livre

O dióxido de enxofre livre dos vinhos testemunha foi determinado por titulação iodimétrica. O equipamento utilizado nesta análise foi um analisador semi-automático, SO₂-Matic 23 da marca Crison. Este analisador baseia-se no método de Ripper automatizado para analisar a quantidade de SO₂ livre.

A determinação de SO₂ livre envolve a titulação iodimétrica direta em meio ácido.

Mediu-se com uma pipeta volumétrica 10,00 mL de amostra e adicionou-se 0,2 g de iodeto de potássio para copos de plástico, e programou-se o equipamento de forma a determinar a concentração deste composto. Para a determinação de SO₂ livre, o equipamento adicionou automaticamente a solução de ácido sulfúrico 25% (v/v), e efetuou uma titulação com a solução de iodo 0,02 M. Nesta titulação, o ponto de viragem foi identificado por uma sonda potenciométrica que estava em contacto com a amostra de vinho. No final de cada ensaio, o equipamento fornece as concentrações de SO₂ livre, em mg/L.

Anexo D - Determinação das características cromáticas

As características cromáticas são determinadas através de espectrofotometria e segundo o método usual da OIV.

Este método permite determinar a intensidade da cor, a tonalidade da cor e o índice de polifenóis totais. Para exemplificar o cálculo destes parâmetros vamos utilizar os valores obtidos experimentalmente, relativos à amostra de vinho tinto testemunha, V8.

Para a medição da absorbância a 420, 520 e 620 nm, os vinhos tintos foram diluídos, segundo um fator de diluição de 10.

A intensidade é obtida através da soma das absorbâncias medidas, como se pode verificar através da equação D.1:

$$Int = (A_{420} + A_{520} + A_{620}) \times Diluição \quad (D.1)$$

$$Int = 18,13$$

A tonalidade relaciona a absorbância a 420 nm com a absorbância a 520 nm, segundo a equação D.2:

$$Ton = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad (D.2)$$

$$Ton = 0,597$$

Para a obtenção do teor de polifenóis totais, a amostra apresenta um fator de diluição de 100. Para o cálculo do IPT aplica-se a equação D.3:

$$IPT = A_{280} \times Diluição \quad (D.3)$$

$$IPT = 69,15$$