



**Catarina Alexandra
Tavares Santiago**

**Estudo do efeito de parâmetros do processo
produtivo na concentração de 2,4,6-Tricloroanisol em
rolhas de cortiça**



**Catarina Alexandra
Tavares Santiago**

**Estudo do efeito de parâmetros do processo
produtivo na concentração de 2,4,6-Tricloroanisol em
rolhas de cortiça**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, realizada sob a orientação científica do Doutor João António Baptista Pereira de Oliveira, Professor Associado do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e co-orientação do Doutor Paulo Alexandre Conde Monterroso, Diretor de Qualidade do Grupo PIEDADE.

Dedico este trabalho aos meus pais e irmã.

o júri

presidente

Prof. Doutora Maria Inês Purcell de Portugal Branco
Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Maria Tereza Seabra dos Reis Gomes
Professora Associada do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutor Paulo Alexandre Conde Monterroso
Diretor de Qualidade do Grupo PIEDADE

agradecimentos

Ao grupo PIEDADE, por ter possibilitado a realização do presente trabalho em ambiente industrial. Em especial, ao Doutor Paulo Monterroso, pela oportunidade, confiança e ajuda sempre que surgiram dúvidas durante a sua execução.

Ao Professor Doutor João Oliveira, pela sua orientação, transmissão de conhecimentos, total disponibilidade e, acima de tudo, pelo seu incentivo e força nos momentos mais difíceis.

À Engenheira Susana, à Sandra e ao Zé Augusto, meus companheiros de laboratório, pelo apoio e ajuda preciosa, sem esquecer os inúmeros momentos de boa disposição.

Aos operadores da unidade industrial Piedade S.A., pela simpatia e colaboração na compreensão do processo produtivo.

Ao Diogo, pelo esclarecimento de questões relacionadas com a análise estatística.

Aos meus pais, pilares da minha vida, por todo o apoio, dedicação e esforço, sem eles dificilmente teria chegado até aqui.

À minha família e amigos, por todo o carinho e apoio.

A todos, um enorme obrigada!

palavras-chave

2,4,6-Tricloroanisol, Rolhas de cortiça, Processo produtivo, Parâmetros, Macerações

resumo

A rolha de cortiça é o vedante de excelência do vinho graças às suas propriedades únicas. Todavia, como se trata de um produto natural, pode apresentar alguns defeitos, como a presença do composto 2,4,6-Tricloroanisol (TCA), que posteriormente pode migrar da rolha para o vinho, provocando um odor e gosto a mofo que prejudica as suas características organolépticas. De forma a combater este problema, as empresas corticeiras têm desenvolvido métodos com vista à sua eliminação/redução e procurado encontrar e solucionar pontos críticos durante o processo produtivo que estarão a contribuir para a sua presença neste tipo de vedante.

O presente trabalho foca-se no estudo de parâmetros do processo produtivo da unidade industrial Piedade S.A. que poderão estar a influenciar a concentração de TCA existente nas suas rolhas de cortiça.

Numa primeira fase, efetuou-se uma pesquisa bibliográfica sobre este tema e, em seguida, analisou-se as diversas etapas do processo produtivo, com o intuito de identificar possíveis parâmetros que possam ser responsáveis pela concentração de TCA existente nas rolhas.

Numa segunda fase, realizou-se vários estudos experimentais, com o propósito de perceber se realmente esses parâmetros são pontos críticos no que diz respeito à contaminação das rolhas devido a este composto. As rolhas de cada estudo foram maceradas numa solução etanólica, durante 24 horas. A concentração de TCA extraído das rolhas para a solução etanólica foi determinada por microextração em fase sólida com separação por cromatografia gasosa e deteção por espectrometria de massa (SPME-GC/MS).

De acordo com os estudos realizados, verificou-se que o não isolamento das pranchas de cortiça não rolhável do processo produtivo e a falta de controlo da humidade e da temperatura da unidade fabril são, dos parâmetros analisados, os que mais intervêm nos níveis de TCA presentes nas rolhas. No ano de 2016, as estações do ano influenciaram a percentagem de rolhas com uma concentração de TCA igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$, sendo que o inverno foi a mais crítica. Uma humidade relativa do ar mais elevada nessa estação do ano, dificultou a secagem das rolhas, proporcionando um maior número de rolhas com um teor de humidade superior a 8 %, e em consequência disso, a percentagem de rolhas com uma concentração de TCA igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ também foi maior.

A aplicação de algumas medidas corretivas, poderá contribuir para uma melhoria da qualidade das rolhas produzidas e fabricadas pela Piedade S.A., em termos de TCA.

keywords

2,4,6-Trichloroanisole, Cork stoppers, Productive process, Parameters, Macerations

abstract

The cork stopper is the excellence sealant of the wine due to its unique properties. However, as it is a natural product, it might present some defects, such as the presence of the 2,4,6-Trichloroanisole compound (TCA), which might later migrate from the cork to the wine causing a mold odour that damages its organoleptic characteristics. In order to end up with this problem, cork companies have developed methods their elimination/reduction and trying to find and solve critical points during the production process that will contribute to their presence in this type of sealant.

The present work focuses on the study of parameters of the production process of the industrial unit Piedade S.A. that might be influencing the levels of TCA present in its cork stoppers.

In a first phase, an exhaustive bibliographical research was carried out on this topic and then the various stages of the productive process were analyzed, in order to identify possible parameters that might be responsible for the concentration of TCA in corks.

In a second phase, several experimental studies were carried out, with the purpose of realizing if these parameters are really critical points regarding the contamination of corks due to this compound. The stoppers of each study were macerated in an ethanolic solution for 24 hours. The concentration of TCA extracted from the stoppers onto the ethanolic solution was determined by solid phase microextraction with gas chromatographic separation and mass spectrometric detection (SPME-GC/MS).

According to the studies carried out, it was verified that the non-insulation of the non-corkable cork boards of the production process and the lack of control of the humidity and the temperature of the factory, are the parameters that most influence the levels of TCA in the stoppers. In the year of 2016, the seasons of the year influenced the percentage of stoppers with a concentration of TCA equal to or greater than 1.5 ng.L^{-1} , and winter was the most critical season of the year. A higher relative humidity of the air at this time of year made it difficult to dry the stoppers, providing a larger number of stoppers with a moisture content of more than 8%, and as a consequence, the percentage of stoppers with a TCA concentration equal to or higher than 1.5 ng.L^{-1} was also higher.

The application of some corrective measures, might contribute to an improvement in the quality of the stoppers produced and manufactured by Piedade S.A. in terms of TCA.

Índice

1. Apresentação da empresa.....	1
2. Introdução	3
2.1. Cortiça.....	3
2.1.1.Do sobreiro à sua extração e produção	3
2.1.2.Estrutura	5
2.1.3.Composição química	6
2.1.4.Propriedades únicas	9
2.2. Rolhas de cortiça	10
2.3. 2,4,6-Tricloroanisol.....	12
2.3.1.A sua origem	13
2.3.2.O gosto a mofo no vinho	14
2.3.3.Combate ao TCA.....	15
2.3.3.1.Métodos de eliminação/redução	15
2.3.3.2.Prevenção durante o processo produtivo	16
2.3.3.3.Controlo da qualidade.....	18
2.4. Objetivo do trabalho.....	18
3. Processo produtivo da Piedade S.A.	21
3.1. Descrição das diversas etapas.....	21
3.2. Parâmetros que possam ter influência nos níveis de TCA nas rolhas.....	25
4. Procedimento experimental	29
4.1. Materiais, reagentes, solventes e equipamentos	29
4.2. Plano de trabalho	30
4.2.1.Estudos realizados	30
4.2.2.Rolhas.....	31
4.2.3.Armazenamento das rolhas.....	31
4.2.4.Armazenamento dos sacos.....	31
4.2.5.Macerações das rolhas de cortiça	32
4.2.6.Quantificação do TCA por SPME-GC/MS	32
4.2.7.Medição de temperaturas e humidades	33
4.3. Tratamento de dados	33
5. Resultados e discussão	35
5.1. Estudo do efeito das condições de armazenamento na concentração de TCA extraído das rolhas.....	35
5.2. Estudo do efeito da cortiça não rolhável na concentração de TCA extraído das rolhas	37
5.3. Estudo do efeito da estufa e da humidade na concentração de TCA extraído das rolhas	39
5.4. Estudo do efeito da temperatura na concentração de TCA extraído das rolhas	41
5.5. Estudo do efeito das estações do ano na concentração de TCA extraído e na humidade das rolhas	43

6. Conclusões.....	47
7. Propostas de ações de melhoria, recomendações e trabalhos futuros	49
8. Bibliografia.....	51
9. Anexos.....	57
Anexo I- Teor de humidade das rolhas utilizadas nas macerações.....	57
Anexo II- Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas para os diferentes parâmetros	59
Anexo III- Concentração de TCA extraído de diferentes ensaios nas quatro estações do ano em 2016	67
Anexo IV- Teor de humidade de rolhas nas quatro estações do ano em 2016	71

Índice de Figuras

Figura 1 -Cortiça virgem e cortiça amadia, respetivamente ^[7]	5
Figura 2 -Disposição das células de cortiça ^[11]	5
Figura 3 -Estrutura da parede celular da cortiça (adaptado de ^[11]).	6
Figura 4 -Estrutura molecular do TCA ^[20]	12
Figura 5 - Mecanismo de formação do TCA por biometilação do TCP numa reação catalisada pela enzima Clorofenol O-metiltransferase (adaptado de ^[19]).	14
Figura 6 -Fluxograma do processo produtivo da unidade industrial Piedade S.A. e entre que etapas são utilizados os diferentes tipos de contentores (Setas cinzentas: não se utiliza sacos nem contentores, setas verdes: sacos de rede, setas azuis: sacos de rafia, setas amarelas: contentores e setas vermelhas: sacos que contêm dióxido de enxofre).	26
Figura 7 -Representação gráfica $\left(x \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}}\right)$ da concentração média de TCA extraído das rolhas do saco aberto e do saco fechado ao longo das 6 semanas.	35
Figura 8 -Representação gráfica $\left(x \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}}\right)$ da concentração média de TCA extraído das rolhas do saco armazenado no sector de armazenamento 1 e do saco em contacto com cortiça não rolhável ao longo das 6 semanas.	37
Figura 9 -Representação gráfica $\left(x \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}}\right)$ da concentração média de TCA extraído das rolhas secas na estufa e das que foram secas à temperatura ambiente ao longo das 6 semanas.	39
Figura 10 -Representação gráfica $\left(x \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}}\right)$ da concentração média de TCA extraído das rolhas expostas a uma temperatura inferior e superior às recomendadas ao longo das 6 semanas.	41
Figura 11 -Percentagem de rolhas com $[TCA]_{\text{extraído}}$ igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ em cada estação do ano em 2016.	43
Figura 12 -Percentagem de rolhas com um teor de humidade inferior, igual e superior aos recomendados nas quatro estações do ano em 2016.	44
Figura 13 - Percentagem de ensaios com $[TCA]_{\text{extraído}}$ igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ em função da percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 %.	46

Índice de Tabelas

Tabela 1 -Composição química típica da cortiça ^[10]	9
Tabela 2 -Algumas propriedades relevantes do TCA ^{[19][20][21]}	13
Tabela 3 -ANOVA dupla com repetição para o estudo do efeito das condições de armazenamento na concentração de TCA extraído das rolhas ao longo das 6 semanas.....	36
Tabela 4 -ANOVA dupla com repetição para o estudo do efeito da cortiça não rolhável na concentração de TCA extraído das rolhas ao longo das 6 semanas.	37
Tabela 5 -ANOVA dupla com repetição para o estudo do efeito da estufa e da humidade na concentração de TCA extraído das rolhas ao longo das 6 semanas.	40
Tabela 6 -ANOVA dupla com repetição para o estudo do efeito da temperatura na concentração de TCA extraído das rolhas ao longo das 6 semanas.	41
Tabela 7 -Número de rolhas com um teor de humidade inferior ([0,4[), igual ([4,8]) e superior (]8, +∞]) aos recomendados, o menor (LI) e o maior (LS) teor de humidade obtido e o teor médio de humidade das rolhas, de cada condição nas semanas 0, 1 e 2.	57
Tabela 8 -Número de rolhas com um teor de humidade inferior ([0,4[), igual ([4,8]) e superior (]8, +∞]) aos recomendados, o menor (LI) e o maior (LS) teor de humidade obtido e o teor médio de humidade das rolhas, de cada condição nas semanas 3,4,5 e 6.	58
Tabela 9 -Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas do saco aberto ao longo das 6 semanas..	59
Tabela 10 -Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas do saco fechado ao longo das 6 semanas.	60
Tabela 11 -Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas do saco em contacto com pranchas de cortiça não rolhável ao longo das 6 semanas.	61
Tabela 12 -Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas secas na estufa ao longo das 6 semanas.	62
Tabela 13 -Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas secas à temperatura ambiente ao longo das 6 semanas.	63
Tabela 14 -Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas expostas a uma temperatura inferior à recomendada ao longo das 6 semanas.	64
Tabela 15 -Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas expostas a uma temperatura superior à recomendada ao longo das 6 semanas.	65
Tabela 16 - Concentração de TCA extraído de diferentes ensaios de cortiça de raça boa nas quatro estações do ano em 2016.	67
Tabela 17 - Concentração de TCA extraído de diferentes ensaios de cortiça de raça média nas quatro estações do ano em 2016.	68
Tabela 18 - Concentração de TCA extraído de diferentes ensaios de cortiça de raça fraca nas quatro estações do ano em 2016.	69
Tabela 19 -Teor de humidade das rolhas (%) na primavera de 2016.....	71

Tabela 20 -Teor de humidade das rolhas (%) no verão de 2016.....	72
Tabela 21 -Teor de humidade das rolhas (%) no outono de 2016.	73
Tabela 22 -Teor de humidade das rolhas (%) no inverno de 2016.	74

Lista de Acrónimos e Siglas

Acrónimo/Sigla	Descrição
ANOVA	Análise de Variância
CIPR	Código Internacional de Práticas Rolheiras
COV	Compostos Orgânicos Voláteis
CPOMT	Clorofenol O-metiltransferase
D ₅ -TCA	2,4,6-Tricloroanisol deuterado
ECD	Detetor de Captura de Eletrões
GC	Cromatografia em Fase Gasosa
MS	Espectrometria de Massa
PCA	Pentacloroanisol
PDMS	Polidimetilsiloxano
PVC	Policloreto de Vinilo
SPME	Microextração em Fase sólida
SPME-GC/ECD	Microextração em Fase Sólida com separação por Cromatografia Gasosa e Detecção por Captura de Eletrões.
SPME-GC/MS	Microextração em Fase Sólida com separação por Cromatografia Gasosa e Detecção por Espectrometria de Massa
TCA	2,4,6-Tricloroanisol
TCP	2,4,6-Triclorofenol
TeCA	2,3,4,6-Tetracloroanisol

Lista de Símbolos

Símbolo	Descrição
F	Valor de F calculado referente à ANOVA
$F_{\text{crítico}}$	Valor de F tabelado
G	Valor correspondente ao teste de Grubbs
n	Tamanho da amostra
p	Probabilidade de significância
s	Desvio padrão amostral
t	Valor da distribuição t tabelado associado à distribuição t de Student
\bar{x}	Média aritmética dos valores da amostra

1. Apresentação da empresa

O grupo PIEDADE, sediado em Portugal, pertence ao segundo maior produtor e distribuidor de rolhas de cortiça a nível mundial, o grupo Francês Oeneo.

O grupo PIEDADE encontra-se dividido em três unidades industriais. A Sá e Sobrinho S.A., situada na região sul do país, é responsável pela preparação das pranchas de cortiça. Após a realização dessa fase, a cortiça é transportada para as outras duas unidades, localizadas no norte do país, de forma a serem produzidos os discos, os granulados e as rolhas de cortiça. A Piedade S.A. encarrega-se da produção de rolhas naturais, enquanto que a produção de rolhas técnicas fica a cargo da Pietec cortiças S.A.

O presente estágio foi realizado na unidade industrial Piedade S.A., situada em Fiães (Santa Maria da Feira). Esta unidade produz rolhas de cortiça natural, disponíveis em diferentes calibres e formatos, de maneira a adaptarem-se à enorme diversidade de garrafas e a todo o tipo de vinho e outras bebidas alcoólicas. A empresa oferece aos seus clientes as seguintes rolhas naturais: tradicionais, Bio (rolhas com cortiça oriunda de agricultura biológica), PIEkol (rolhas naturais colmatadas) e PIEcap (rolhas naturais capsuladas). Anualmente, produz cerca de 150 milhões de rolhas que são comercializadas em diversos mercados.

2. Introdução

Ao longo de vários séculos, a cortiça foi a única matéria-prima utilizada no fabrico de vedantes para garrafas de vinho, dado que é a única que proporciona a conservação e o desenvolvimento das qualidades aromáticas e organolépticas deste. Porém, devido ao chamado “gosto a rolha” no vinho associado à presença de compostos haloanisóis, particularmente, o composto 2,4,6-Tricloroanisol (TCA), que compromete o seu sabor e a sua qualidade, desencadeou-se uma revolução no mercado de vedantes para o vinho. Atualmente, já existem outras matérias-primas para a produção de vedantes, como o alumínio, o plástico e o vidro, que apesar de não possuírem as características da cortiça, contribuem para o decréscimo da sua utilização. De maneira a combater esse decréscimo e devido à crescente exigência do consumidor e preferência pelo consumo de vinhos de elevada qualidade, que está relacionada também com a qualidade da rolha, a indústria corticeira durante os últimos anos tem desenvolvido técnicas/métodos que possibilitem reduzir/eliminar o TCA presente nas rolhas e adotado medidas preventivas durante todo o processo produtivo de fabricação destas, para reduzir o risco de desvios sensoriais em vinhos engarrafados devidos à rolha de cortiça ^{[1][2]}. O esforço da indústria corticeira deu frutos, e entre 2001 e 2005, a média de TCA libertável nas rolhas diminuiu drasticamente (cerca de 80 %) ^[3], mas permanece a procura por novos métodos e a deteção de pontos críticos no decorrer do processo produtivo para erradicar o problema do TCA.

2.1. Cortiça

2.1.1. Do sobreiro à sua extração e produção

O sobreiro (*Quercus Suber L.*) é uma árvore da família dos carvalhos, que se distingue sobretudo pela sua casca volumosa de tecido suberoso ^[4]. O sobreiro cresce lentamente e apenas em regiões específicas do Mediterrâneo Ocidental, como na Europa (Portugal, Espanha, França e Itália) e no norte de África (Argélia, Tunísia e Marrocos), visto que necessita de uma grande quantidade de luz solar, baixa precipitação e elevada humidade ^[5].

O montado de sobreiro ocupa uma área mundial de 2 139 942 de hectares. Portugal concentra cerca de 34 % da área mundial, o que simboliza uma área de mais de 736 000 hectares, 23 % da floresta nacional, representando a segunda espécie florestal dominante em Portugal, a seguir ao eucalipto, sendo que se encontra maioritariamente no Alentejo (84 %) [6].

A cortiça é uma matéria-prima, que provém da extração da camada exterior do sobreiro, sob a forma de pranchas, através de um processo denominado de descortiçamento. Este processo é realizado durante a fase mais ativa do crescimento da cortiça, entre maio até ao fim do mês de agosto. O primeiro descortiçamento (chamado de desbóia) acontece, geralmente, quando a árvore atinge uma idade entre 25 e 30 anos, desde que o tronco do sobreiro apresente um perímetro de cerca de setenta centímetros quando medido a um metro e meio do chão. Esta primeira cortiça extraída é designada de cortiça virgem (Figura 1) e apresenta uma superfície exterior muito irregular e dura, resultante das fraturas que sucederam devido às fortes tensões tangenciais originadas pelo crescimento radial do tronco do sobreiro, pelo que a sua aplicação é limitada apenas ao fabrico de produtos aglomerados (como pavimentos e isolamentos). Nove anos depois, é realizada a segunda extração, denominada de cortiça secundeira, que apesar de exibir uma superfície mais regular e menos dura que a primeira, ainda apresenta algumas irregularidades, pelo que é utilizada para o mesmo fim que a cortiça virgem. A partir do terceiro descortiçamento, e a cada nove anos, como a árvore já se encontra numa fase adulta, isto é, o seu crescimento radial é menor, é possível obter cortiça com uma estrutura regular, designada de cortiça de reprodução ou amadia (Figura 1), que é utilizada para o fabrico de rolhas. Cada sobreiro produz em média 15 descortiçamentos durante a sua vida, já que a sua idade limite para a produção desta matéria-prima é de 150 a 200 anos. Tantos descortiçamentos só são possíveis devido à grande capacidade do felogénio (camada geradora da cortiça) de se regenerar naturalmente após cada extração da cortiça, permitindo assim uma exploração do sobreiro de uma forma sustentada ao longo da sua vida [4][7][8][9].

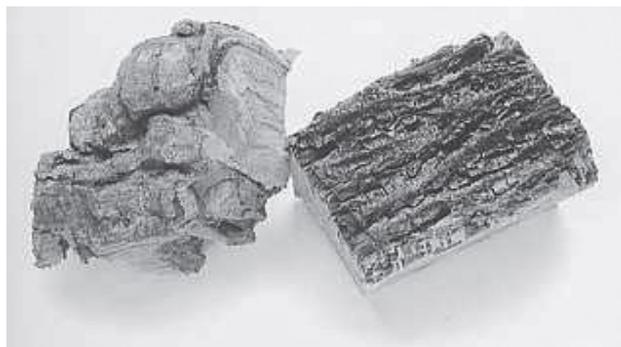


Figura 1-Cortiça virgem e cortiça amadia, respetivamente [7].

A produção mundial de cortiça é superior a 201 000 toneladas, destacando-se Portugal como o maior produtor, com uma média de 49,7 %. No que toca às exportações, Portugal também é líder mundial com 62,7 %, sendo que o principal sector de destino dos produtos de cortiça é a indústria vinícola com 72 %, seguido do sector da construção civil com 21,5 % [6].

2.1.2. Estrutura

A cortiça é um tecido vegetal, composto por células prismáticas mortas, dispostas compactamente e sem espaços intercelulares, contendo no seu interior um gás, análogo ao ar, que equivale a cerca de 90 % do volume de uma prancha de cortiça. O seu aspeto microscópico tangencial é idêntico a um favo-de-mel, enquanto que o seu aspeto em cortes transversal e radial é semelhante a uma parede de tijolos, como se pode observar na Figura 2 [4][10].

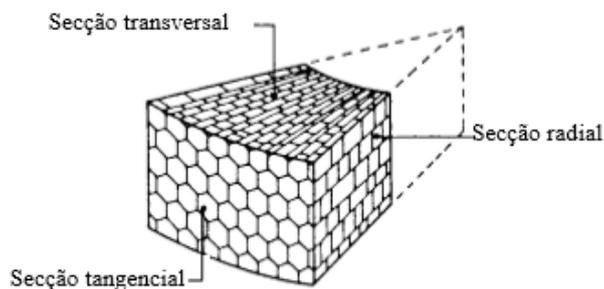


Figura 2-Disposição das células de cortiça [11].

As células produzidas no outono são em menor número, mais pequenas e de paredes celulares mais espessas que as células de primavera. Contudo, são as células de primavera que constituem a maior parte do tecido suberoso, devido ao facto de serem produzidas na fase de crescimento mais intensa da cortiça. Assim, cada célula apresenta uma dimensão média entre 30 μm e 40 μm de largura, 35 μm a 45 μm de altura e uma espessura das paredes celulares de 1,5 μm [7].

As paredes celulares da cortiça são constituídas por uma lamela média fina formada principalmente por lenhina, que serve de ligação entre células adjacentes, uma parede primária, fortemente lenhificada e de espessura muito reduzida, uma parede secundária bastante mais espessa composta por camadas alternadas de suberina e ceras extratáveis e uma parede terciária formada por lenhina e celulose, como se pode ver na Figura 3. As paredes primária e terciária conferem a estrutura de suporte às células [4].

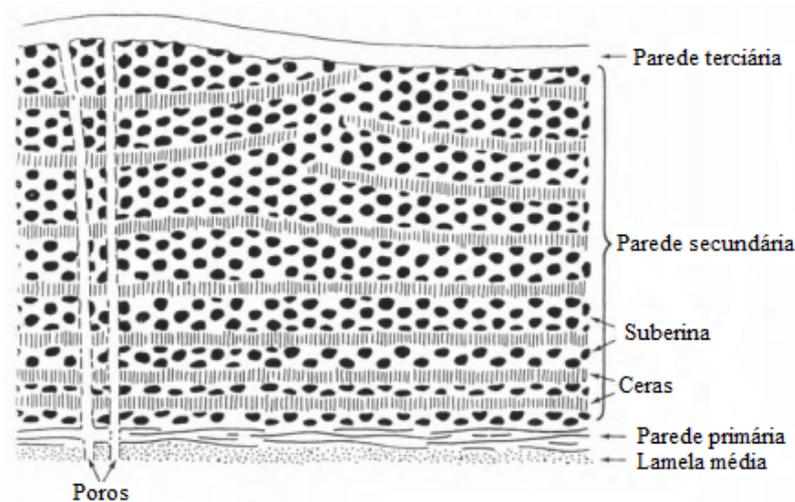


Figura 3-Estrutura da parede celular da cortiça (adaptado de [11]).

2.1.3. Composição química

Como a cortiça é uma matéria-prima bastante complexa, a sua composição química e a estrutura molecular dos seus componentes ainda são objeto de investigação. Os componentes que constituem a cortiça podem ser divididos em dois tipos, os estruturais e os não estruturais [4][10].

Os **componentes estruturais** das paredes celulares da cortiça são a suberina, a lenhina e os polissacarídeos. Estas macromoléculas são insolúveis e proporcionam às células a sua forma e muitas das suas propriedades físicas e químicas [4].

- ❖ Suberina: é o principal componente da cortiça, existente nas paredes das células, em camadas alternadas com substâncias ceróides [9][10].

É um polímero natural e complexo, bastante hidrofóbico e insolúvel nos solventes orgânicos, composto por dois domínios, um polialifático e um poliaromático [10][12][13]. Porém, a estrutura da suberina ainda suscita muitas dúvidas, variando de autor para autor, principalmente em relação ao papel dos compostos aromáticos na estrutura. De acordo com Bernard [14][15], o domínio polialifático é formado por segmentos de poliésteres ramificados, constituídos na sua maioria por cadeias de ácidos gordos unidos através de unidades de glicerol. O domínio poliaromático é dividido em duas partes: uma encontra-se inserida no domínio alifático, e é formada basicamente por unidades de ácido hidroxicinâmico esterificadas por glicerol ou ácidos gordos do tipo ω -hidróxi, enquanto que a outra está separada desse domínio, e é constituída apenas por unidades de ácido hidroxicinâmico.

A suberina é responsável por muitas das propriedades únicas da cortiça, como a sua impermeabilidade a gases e líquidos e as suas propriedades mecânicas [16].

- ❖ Lenhina: é o segundo componente estrutural mais importante das paredes celulares da cortiça [16]. É um polímero amorfo de elevado peso molecular com uma estrutura entrecruzada, irregular e de carácter aromático, formado pela polimerização dos álcoois coniferílico, sinapílico e p-cumarílico [4].

Na cortiça, a lenhina é o componente que confere rigidez à parede celular e possui funções de suporte para os outros componentes estruturais, não sendo possível removê-la sem que as paredes celulares colapsem totalmente. Esta macromolécula é obtida como resíduo, após a extração dos ceróides e taninos através de solventes, da despolimerização da suberina e da hidrólise dos polissacarídeos [4][10].

- ❖ Polissacarídeos: a celulose (homopolímero) e a hemicelulose (heteropolímero) são os polissacarídeos das paredes celulares da cortiça. A celulose é formada por monómeros de β -D-glucopiranosose, interligados por ligações glicosídicas. As hemiceluloses são constituídas por pentoses (xilose, arabinose) e hexoses (glucose, manose, galactose, ramnose, ácido glucurónico). Juntamente com a lenhina, estes dois polissacarídeos são responsáveis pela estrutura de suporte das paredes das células da cortiça ^{[4][10]}.

Os **componentes não estruturais** encontram-se divididos em dois grupos, extrativos (taninos e ceróides) e inorgânicos. Os componentes extrativos são compostos de baixo peso molecular que são facilmente extraídos da cortiça ^[4].

- ❖ Taninos: são compostos fenólicos, com pesos moleculares entre 500 g.mol^{-1} e 3000 g.mol^{-1} , que podem ser isolados da cortiça por extração com água. Segundo a sua estrutura, são usualmente separados em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Os primeiros são constituídos na sua maioria por esteres do ácido gálico e glucose, e os segundos têm como principais componentes as catequinas e as leucoantocianidinas. Os taninos desempenham funções protetoras contra os ataques de organismos biológicos ^{[4][5][10]}.
- ❖ Ceróides: são compostos constituídos por alcanos, alcanóis e triterpenóides. Podem ser obtidos diretamente da cortiça por extração com solventes orgânicos. Contribuem, simultaneamente com a suberina, para as características de impermeabilização da cortiça ^{[4][7]}.
- ❖ Componentes inorgânicos: são o resíduo da combustão da cortiça. O principal elemento mineral da cortiça é o cálcio (60 %), seguido do fósforo, do sódio, do potássio e do magnésio ^[4].

Em termos quantitativos, a composição de cada um dos componentes na cortiça não é exata. Como a cortiça é um produto natural, a sua composição depende de fatores como a origem geográfica, o clima, as condições do solo, as dimensões das árvores, a idade e as condições de crescimento. Ademais, a utilização de métodos de análise diferentes influencia a composição dos seus componentes ^{[5][10]}. A Tabela 1 mostra a composição química típica da cortiça.

Tabela 1-Composição química típica da cortiça ^[10].

Componentes		%
Estruturais	Suberina	45
	Lenhina	27
	Polissacarídeos	12
Não estruturais	Extrativos	
	Taninos	6
	Ceróides	5
	Inorgânicos	
	Cinzas	5

2.1.4. Propriedades únicas

As excepcionais propriedades da cortiça são devidas à sua estrutura e composição química ^[16], permitindo que esta seja utilizada para vários fins.

- ❖ **Leveza:** é a qualidade mais evidente da cortiça. Esta característica é devida essencialmente ao elevado teor em gás presente nas células, apresentando uma densidade bastante baixa, entre 120 kg.m^{-3} e 300 kg.m^{-3} ^{[5][10]}.
- ❖ **Impermeabilidade a líquidos e a gases:** a existência de substâncias hidrófobas nas paredes celulares, os ceróides e a suberina, fazem com que a cortiça seja praticamente impermeável a líquidos e a gases ^[17].
- ❖ **Imputrescibilidade:** como a cortiça é bastante resistente à ação da humidade, esta envelhece sem se deteriorar.
- ❖ **Elasticidade e compressibilidade:** graças à flexibilidade das paredes celulares, em virtude do elevado teor de suberina (45 %), que é uma substância maleável adaptando-se facilmente a variações dimensionais e de forma, e ao elevado teor em gás, a cortiça pode ser comprimida até cerca de metade da sua largura sem

perder qualquer elasticidade, conseguindo recuperar o seu volume primitivo logo que deixa de estar sujeita à compressão ^{[10][17]}.

- ❖ Excelente isolante térmico e acústico: as excepcionais propriedades de isolamento da cortiça são devidas ao facto de existirem pequenos compartimentos impermeáveis cheios de gás, isolados uns dos outros por um material resistente à humidade ^{[10][17]}.
- ❖ Combustão lenta: a lenta combustão da cortiça torna-a num retardador natural do fogo (os sobreiros são mais resistentes ao fogo que as outras árvores). Durante a sua combustão não gera chama nem liberta gases tóxicos ^[17].

Para além das propriedades descritas anteriormente, a cortiça é um material totalmente natural, reciclável, reutilizável e renovável. Estas qualidades são fundamentais numa sociedade que atualmente se quer menos poluída e mais amiga do ambiente ^[17].

2.2. Rolhas de cortiça

Graças às suas extraordinárias qualidades, a cortiça possui uma ampla gama de aplicações. Materiais para a construção civil, decoração, transporte e moda, são alguns dos exemplos do potencial e da excelência da cortiça. Todavia, o seu principal destino é a indústria vinícola, sobretudo para a produção de rolhas de cortiça natural, dado que estas desempenham um papel fundamental na conservação e envelhecimento dos vinhos ^{[1][5][6]}. As rolhas de cortiça podem agrupar-se nas seguintes categorias ^[18]:

- ❖ Rolhas naturais: produzidas por brocagem a partir de uma peça única de cortiça. Estas rolhas permitem uma excelente vedação ao longo de vários anos, promovendo o envelhecimento nobre do vinho através de inúmeros processos físico-químicos. Existem em forma cilíndrica ou cónica e em diversos calibres.
- ❖ Rolhas multipeça: são rolhas de cortiça natural fabricadas a partir da colagem de duas ou mais metades de cortiça entre si, por meio de uma cola que pode estar em contacto com alimentos. São recomendáveis para vedar garrafas de grandes

formatos, que requerem calibres de rolhas maiores, e como tal, mais difíceis de fabricar numa só peça.

- ❖ Rolhas colmatadas: as rolhas de cortiça natural mais porosas (rolhas com muitos poros) são submetidas a um processo de colmatagem, que consiste no preenchimento dos poros com pó de cortiça proveniente da etapa de retificação da fabricação das rolhas naturais. O pó de cortiça é fixo aos poros através da utilização de uma cola à base de resina natural e de borracha natural. O processo de colmatagem tem como objetivo melhorar o aspeto visual e o desempenho da rolha.
- ❖ Rolhas técnicas: concebidas para engarrafar vinhos destinados a ser consumidos num período de tempo curto (entre 2 anos a 3 anos). Esta categoria de rolhas é formada por um corpo de cortiça aglomerada densa e com discos de cortiça natural colados em um, ou nos dois topos, usando aglutinantes específicos. As rolhas que possuem um disco em cada topo são denominadas de rolhas técnicas 1+1, as que possuem dois discos apenas num dos topos são designadas de rolhas técnicas 2+0 e por fim, as que apresentam dois discos em cada um dos topos são chamadas de rolhas técnicas 2+2. Apesar de serem rolhas mais baratas, são rolhas de elevada qualidade, pois são quimicamente estáveis e bastante resistentes.
- ❖ Rolhas de champanhe: são rolhas destinadas a vedar champanhe, vinhos espumantes ou vinhos espumosos. Pertencem à classe das rolhas técnicas, uma vez que são elaboradas a partir de um corpo formado por aglomerado de grânulos de cortiça, ao qual, num dos topos, é aplicado um, dois ou três discos de cortiça natural selecionada. Em comparação com os outros tipos de rolhas, as de champanhe apresentam um diâmetro maior, devido às elevadas pressões existentes nas garrafas de vinho com gás.
- ❖ Rolhas aglomeradas: fabricadas exclusivamente a partir de granulados de cortiça resultantes de subprodutos procedentes da produção de rolhas naturais. Podem ser fabricadas de duas maneiras diferentes, por extrusão ou por moldação individual. São rolhas mais baratas e menos resistentes, mas que são excelentes para vedar vinhos de consumo rápido (até 2 anos).

- ❖ Rolhas micro granuladas: possuem um corpo de cortiça aglomerada de granulometria específica. Estas rolhas são perfeitas para vinhos de consumo rápido, mas já com alguma complexidade.
- ❖ Rolhas capsuladas: rolhas em que é colocada uma capsula no seu topo, que pode ser de madeira, policloreto de vinilo (PVC), porcelana, metal, vidro ou outros materiais. A rolha capsulada é normalmente utilizada em vinhos licorosos/generosos ou em bebidas espirituosas que, quando surgem no mercado, estão prontos a serem consumidos. A fácil reutilização deste tipo de rolha, é uma vantagem para as garrafas em que o vinho não é consumido de uma só vez.

2.3. 2,4,6-Tricloroanisol

O 2,4,6-Tricloroanisol, mais conhecido pela sigla TCA, é um composto químico aromático da família dos haloanisóis, derivado do anisol ou metoxibenzeno, que inclui na sua composição três átomos de cloro (Figura 4). O anisol, por sua vez, é um composto derivado do fenol e está presente em várias substâncias voláteis, que são habitualmente odoríficas, como é o caso do TCA ^[19]. As propriedades relevantes do TCA encontram-se na Tabela 2.

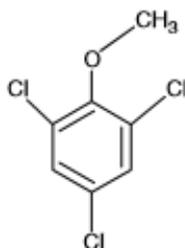


Figura 4-Estrutura molecular do TCA ^[20].

Tabela 2-Algumas propriedades relevantes do TCA ^{[19][20][21]}.

Propriedades		Unidades	Valor
Massa molecular		g.mol ⁻¹	211,47
Ponto de ebulição		°C	240
Ponto de fusão		°C	61-62
Pressão de vapor (a 25 °C)		mmHg	22,8x10 ⁻³
Constante de Henry (a 25 °C)		atm.cm ³ .mol ⁻¹	130
Solubilidade em água (a 20 °C)		mg.L ⁻¹	10
Limiar de deteção	Em solução aquosa	pg.L ⁻¹	30-300
	Em solução alcoólica	ng.L ⁻¹	1,5-3

2.3.1. A sua origem

Embora existam diversas hipóteses que tentam explicar a origem do TCA, a única comprovada cientificamente é a transformação do 2,4,6-triclorofenol (TCP) por biometilação, sendo a reação concretizada por microrganismos, geralmente fungos filamentosos ^{[19][22]}. Vários autores verificaram que espécies de fungos presentes em amostras de cortiça como a *Penicillium*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Chrysonilia*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces* e *Verticillium* podem ser responsáveis pela formação de TCA quando crescem na cortiça e na presença de TCP. As maiores conversões de TCP em TCA foram alcançadas pelas espécies *Trichoderma* e *Fusarium*, que transformaram mais de 25 % do precursor em TCA ^[23].

Como o TCP é um composto muito tóxico e lipossolúvel, pode atravessar a parede e a membrana celular do fungo alcançando o seu interior (citoplasma e núcleo) podendo danificar irreversivelmente proteínas importantes, ou até mesmo levar à sua morte. Para que tal não aconteça, o fungo quando entra em contacto com o TCP, defende-se produzindo imediatamente uma enzima denominada clorofenol O-metiltransferase (CPOMT), que transforma o TCP em TCA, que se incorpora no material em que o fungo está a crescer ^[19]. A enzima CPOMT é a única enzima responsável pela formação de todos os anisóis que contaminam o vinho ^[24]. O mecanismo desta reação está representado na Figura 5.

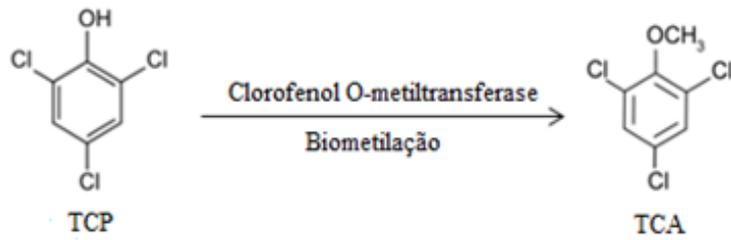


Figura 5- Mecanismo de formação do TCA por biometilação do TCP numa reação catalisada pela enzima Clorofenol O-metiltransferase (adaptado de ^[19]).

2.3.2. O gosto a mofo no vinho

Entre os defeitos que podem apresentar os vinhos, o gosto/odor a mofo é um dos problemas que mais afeta a indústria vinícola, representando enormes prejuízos económicos devido à sua rejeição por parte dos consumidores ^[25]. Este desagradável odor, que diminui a qualidade do vinho e modifica o seu aroma natural, é usualmente atribuído a compostos químicos presentes nas rolhas de cortiça, que têm a capacidade de migrarem das rolhas para o vinho (frequentemente utilizado de forma errada o termo “gosto a rolha”). As rolhas podem estar livres destes compostos e os vinhos apresentarem igualmente este odor indesejável, sendo a sua origem devida, por exemplo, a uma possível contaminação do ambiente das adegas ou dos barris, pelo que as rolhas não são as únicas responsáveis por este defeito sensorial ^{[26][27]}. Além disso, estes compostos já foram detetados em outros produtos alimentares que não estiveram em contacto com rolhas de cortiça, tais como a água, o café, o frango, os ovos e os frutos secos ^{[24][28]}.

Os principais compostos químicos responsáveis por este defeito sensorial são os cloroanisóis, como o 2,3,4,6-tetracloroanisol (TeCA), o pentacloroanisol (PCA), mas sobretudo o TCA ^{[29][30][31]}. De acordo com os resultados do projeto Quercus (projeto criado pela Confederação Europeia de Cortiça com o objetivo de investigar com mais detalhe as causas e origens dos desvios sensoriais associados ao gosto/aroma a mofo no vinho), o TCA estava presente em mais de 80 % das amostras recolhidas de vinhos engarrafados. Mesmo numa pequena quantidade, a presença deste cloroanisol é notória, em consequência do seu baixo limiar de deteção (Tabela 2), e embora altere as características organoléticas do vinho, o TCA é inofensivo ^{[26][32][33]}.

Para além dos cloroanisóis, existem outros compostos que são capazes de arruinar as propriedades organoléticas do vinho, tais como 1-octeno-3-ona e 1-octeno-3-ol (aroma de cogumelo), 2-metil-isoborneol (aroma de terra), geosmina (aroma de mofo/bolor) e guaiacol (aroma de fumo) ^{[29][34][35]}.

2.3.3. Combate ao TCA

Desde que o TCA foi identificado como o principal responsável pelo gosto/sabor a mofo no vinho, que a indústria corticeira tem desenvolvido métodos/técnicas que permitam a sua eliminação/redução, adotado medidas de forma a prevenir a sua formação ao longo de todo o processo produtivo e realizado o seu controlo.

2.3.3.1. Métodos de eliminação/redução

Os métodos de eliminação/redução do TCA utilizam diferentes processos: químicos, físicos, físico-químicos e biológicos. Uns métodos atuam diretamente nos níveis de TCA presentes na cortiça, e outros na eliminação das suas causas, como é o caso dos microrganismos ^[21].

Os processos de desodorização por extração/lavação com solventes não são muito eficazes, em razão da baixa permeabilidade a líquidos e a gases por parte da cortiça. Embora existam técnicas de extração em que o TCA é removido de forma eficiente, tal como a utilização de n-pentano em *soxhlet* ou de um fluido denso sob pressão, têm o inconveniente de serem métodos demasiado caros em escala industrial ^[21]. A extração supercrítica utilizando dióxido de carbono é um método rápido e muito eficiente, mas apenas a cortiça em forma de granulado é submetida a este processo ^[36]. A utilização de alguns solventes orgânicos nos métodos de extração tem um risco acrescido para os consumidores e para o meio ambiente.

Outro método de desodorização que possibilita a extração dos odores da cortiça é o aquecimento desta a 80 °C durante 6 horas a 8 horas. No entanto, o TCA não é desorvido a seco por evaporação, porque se encontra adsorvido pelos compostos macromoleculares da cortiça ^[21].

Os processos de esterilização descritos na literatura apenas atuam sobre os microrganismos, não tendo qualquer efeito sobre o TCA já existente na cortiça aquando do tratamento. Porém, a utilização deste tipo de método é importante, já que ao eliminar os microrganismos reduz-se a probabilidade de formação de mais TCA [21].

O tratamento das rolhas com radiação gama é um dos métodos mais eficazes, permitindo não só a redução ou até mesmo a eliminação total do TCA, mas também a destruição dos microrganismos. Este processo consiste na utilização de radiação gama com uma dose que permita a degradação molecular da molécula do TCA, convertendo-a em resíduos moleculares que não possuem o mesmo defeito sensorial. Este processo tem a grande vantagem de ser aplicado em rolhas já embaladas prontas a serem utilizadas, não podendo as rolhas virem a ser contaminadas antes do engarrafamento devido à sua produção [21].

O princípio das micro-ondas também atua nas duas frentes: nos microrganismos e diretamente sobre o TCA. Este princípio traduz-se na penetração das ondas eletromagnéticas na cortiça, aquecendo-a a ela e aos microrganismos aí presentes, através do aquecimento da água existente em ambos, resultando na morte dos microrganismos e na evaporação das contaminações químicas e dos odores [21].

Além dos processos descritos anteriormente, muitos outros foram propostos com vista à remoção dos contaminantes presentes nas rolhas de cortiça [19][21].

2.3.3.2. Prevenção durante o processo produtivo

Segundo Simpson e Sefton [37], a maior parte do TCA presente nas rolhas de cortiça já se encontra na casca dos sobreiros. Um dos fatores que mais contribui para isso, foi a utilização durante décadas de clorofenóis (como o TCP) como pesticidas nos sobreiros. Hoje em dia, apesar da utilização de estes compostos como pesticidas estar proibida, as sequelas continuam a ser sentidas [37][38]. Contudo, desde a extração das pranchas de cortiça dos sobreiros até à obtenção das rolhas acabadas, podem existir mais pontos de contaminação. A elaboração do Código Internacional das Práticas Rolheiras (CIPR) [39], tem contribuído para a redução das causas, que direta ou indiretamente, contribuem para a formação do TCA.

Em relação às pranchas de cortiça, estas devem ser submetidas primeiro a um processo de cozedura antes de serem empregues na produção de rolhas, de forma a

destruírem parcialmente a flora microbiana presente nas pranchas. No entanto, mesmo com a redução da microflora, a cortiça é rapidamente colonizada por microrganismos, principalmente fungos, quando estes encontram condições ambientais propícias ao seu desenvolvimento, sendo necessário ter em atenção essas condições, em especial, durante o repouso das pranchas depois da cozedura ^[1]. Relativamente ao seu armazenamento, as pranchas não podem estar diretamente em contacto com o solo, nem devem estar empilhadas em materiais que possam contaminar a cortiça ^[39].

É crucial eliminar e isolar toda a cortiça que apresente atividade microbiana em qualquer uma das etapas de preparação ou de fabricação das rolhas. Os locais onde é transformada ou armazenada a cortiça devem estar livres de poluição atmosférica e isolados das pranchas de cortiça contaminada ^[32].

Está expressamente banida pelo CIPR, a aplicação de cloro ou compostos clorados durante todo o processo produtivo ^[18], em virtude de ocorrer uma reação entre o cloro e uma fonte de fenol proveniente da cortiça ou da degradação da lenhina, podendo originar compostos clorofenólicos que podem ser convertidos em cloroanisóis (como o TCA) ^{[1][40]}. Presentemente, por exemplo, as rolhas são lavadas com peróxido de hidrogénio em substituição de produtos clorados.

No que diz respeito ao armazenamento das rolhas, é necessário também ter alguns cuidados. As rolhas devem ser armazenadas em recipientes completamente selados, como sacos impermeáveis, de modo a evitar uma possível contaminação e níveis elevados de humidade ^[32]. Além do mais, é fundamental que as condições ambientais sejam controladas, pois se forem inadequadas podem ter influência na formação do TCA ^[41]. As rolhas devem ser armazenadas em locais frescos e secos com uma temperatura entre 15 °C a 20 °C e uma humidade relativa entre 50 % a 70 % ^[18]. Uma humidade relativa baixa pode secar as rolhas fazendo com que estas percam as suas propriedades mecânicas, e uma humidade excessivamente elevada pode levar ao crescimento de fungos nas paredes, nos materiais e nas rolhas, que em contacto com o precursor do TCA levam à sua formação ^[42]. Quando as rolhas estão prontas normalmente são embaladas em sacos com atmosfera de dióxido de enxofre ^[21].

É de salientar que as medidas descritas anteriormente, apenas ajudam a prevenir a possibilidade de mais contaminações durante o processo produtivo, mas não intervêm na quantidade de TCA que já se encontra nas pranchas ou nas rolhas de cortiça ^[21].

2.3.3.3. Controlo da qualidade

O TCA é detetado em rolhas de cortiça através da análise sensorial e da cromatografia gasosa com diferentes modos de deteção.

A análise sensorial contribui para o controlo da qualidade das rolhas de cortiça. Este método permite identificar diferentes aromas, que podem ser transmitidos das rolhas de cortiça para o vinho, alterando o seu aroma natural. Esta análise é realizada por um painel de provadores treinados e o seu procedimento analítico está expresso na norma ISO/PRF 22308 [43].

Como através da análise sensorial é muito difícil detetar e quantificar os contaminantes responsáveis pelos defeitos sensoriais do vinho, a técnica mais adequada para a identificação e quantificação do TCA é a cromatografia gasosa (GC), adotando geralmente a deteção por espectrometria de massa (MS) ou por captura de eletrões (ECD). Mas primeiro é necessário extrair os analitos da amostra, e para tal, foram propostas várias técnicas, como extração líquido-líquido, extração em fase sólida, extração por fluidos supercríticos e a microextração em fase sólida (SPME). A SPME é a mais utilizada devido às suas inúmeras vantagens em relação às outras: não utiliza solventes orgânicos (reduzindo o seu custo), reduz o tempo de análise, pode acoplar-se com os diferentes tipos de equipamento analíticos e é fácil de utilizar. Em suma, a deteção e quantificação do TCA nas rolhas de cortiça é feita usualmente através da combinação da técnica de microextração em fase sólida com a cromatografia em fase gasosa com deteção por espectrometria de massa ou por captura de eletrões (SPME-GC/MS ou SPME-GC/ECD), conforme a norma ISO 20752 [2][28][31][44].

2.4. Objetivo do trabalho

A realização deste trabalho teve como objetivo principal o estudo de parâmetros do processo produtivo da Piedade S.A., que possam estar a contribuir para os níveis de TCA presentes nas rolhas de cortiça. Para que fosse possível atingir-se este objetivo foi necessário:

- ❖ Analisar as diversas etapas do processo produtivo da unidade industrial.
- ❖ Identificar possíveis parâmetros que possam estar a contribuir para a evolução dos níveis de TCA nas rolhas durante o processo produtivo.

- ❖ Estudar o efeito de cada um dos parâmetros na concentração de TCA presente nas rolhas, com o propósito de verificar se realmente esses parâmetros são pontos críticos no que diz respeito à contaminação das rolhas por esse composto.
- ❖ Com base nos resultados obtidos, propor ações de melhoria para solucionar os parâmetros críticos, para que a empresa consiga produzir rolhas de cortiça de maior qualidade e mais competitivas.

3. Processo produtivo da Piedade S.A.

3.1. Descrição das diversas etapas

Desde a extração das pranchas até à obtenção das rolhas naturais, a cortiça passa por várias etapas. A preparação das pranchas de cortiça, que consiste numa secagem lenta ao ar, na cozedura das pranchas, posterior estabilização e seleção das mesmas, é realizada na unidade industrial Sá e Sobrinho S.A. Antes de serem submetidas à cozedura, as pranchas permanecem por um período não inferior a seis meses ao ar livre, de modo a reduzir a humidade da cortiça, a estabilizar a sua textura e a oxidar os polifenóis. A cozedura das pranchas cruas tem como finalidade limpar a cortiça, extrair as substâncias hidro-solúveis, aumentar a espessura e a elasticidade e amaciá-las, através da imersão das pranchas em água limpa a ferver, durante pelo menos uma hora. Após a cozedura, é necessário proceder-se novamente à estabilização (repouso) das pranchas, para que a cortiça alcance a consistência necessária para a sua transformação em rolhas e o teor de humidade ideal para o seu processamento. Geralmente, o período de repouso tem uma duração de duas a três semanas, e só depois desse período, é executada a fase de seleção das pranchas de cortiça preparada, em que é separada a cortiça que não possui as características necessárias para o fabrico de rolhas ^{[18][39]}.

Uma vez concluídas todas as etapas de preparação, a cortiça é transportada para a unidade industrial Piedade S.A., onde são fabricadas e produzidas as rolhas de cortiça natural. O processo produtivo compreende as etapas descritas em seguida e o seu fluxograma está representado na Figura 6 (Página 26).

Seleção da cortiça

A primeira etapa do processo produtivo da unidade industrial traduz-se na separação das pranchas de cortiça por diferentes calibres.

Rabaneação

Nesta operação, as pranchas de cortiça separadas por calibres, são cortadas com a barriga para cima em tiras transversais, denominadas por rabanadas, com uma largura

ligeiramente superior ao comprimento da rolha desejada. A cortiça com manchas ou podre é colocada em locais devidamente sinalizados.

Brocagem

De seguida, as rabanadas são perfuradas com o auxílio de uma broca, obtendo-se rolhas cilíndricas sem deformações e em conformidade com os limites dimensionais desejados. Este passo é executado de modo manual e semiautomático.

Secagem

Esta etapa tem como intuito a diminuição do teor de humidade das rolhas obtidas na brocagem, de maneira a garantir a sua estabilidade dimensional e a prevenir contaminações microbiológicas.

Este passo é realizado num silo, em que as rolhas permanecem normalmente durante 48 horas a secar e, ao fim desse tempo, se possuírem o teor de humidade adequado progridem para a etapa seguinte. Se porventura o valor da humidade não for o apropriado, as rolhas mantêm-se no silo até atingirem esses valores. Após esta primeira secagem, as rolhas devem apresentar um teor de humidade de $6 \% \pm 2 \%$.

Tirar cavacos

A posteriori, são retiradas todas as rolhas com defeitos, como bocados de rolhas, rolhas partidas e rolhas com mancha amarela ou verdura.

Retificação

Após a rabaneação e a brocagem, as rolhas apresentam dimensões diferentes e acabamentos imperfeitos. A retificação visa a obtenção das dimensões finais das rolhas (comprimento e diâmetro) e a regularização das suas superfícies. Esta etapa é dividida em duas operações, Topejamento e Ponçagem. Primeiro, as rolhas passam por topejadeiras que as retificam com o comprimento pretendido e as lixam nos topos para que estes fiquem paralelos e perpendiculares ao eixo do corpo. Depois, para ajustar o diâmetro, as rolhas são encaminhadas para as ponçadeiras.

Escolha eletrônica

Nesta etapa são eliminadas as rolhas com defeitos e separadas as rolhas em diferentes raças tendo em conta o seu grau de porosidade (número e dimensões dos seus poros).

Antes da lavação, as rolhas são divididas em raça boa, raça média ou raça fraca. Esta separação é realizada por máquinas eletrônicas.

Lavação

Finalizada a etapa de separação das rolhas por raças tendo em consideração a sua qualidade visual, estas são lavadas em tambores de lavação com produtos químicos, a fim de assegurar a sua limpeza, despoeiramento e o melhoramento do seu aspeto visual.

Secagem

Posteriormente à lavação, as rolhas necessitam de ser secas de modo a reduzir a humidade até aos valores pretendidos ($6\% \pm 2\%$). A secagem é realizada a uma temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ numa estufa. O tempo de secagem depende das condições climatéricas e da humidade que as rolhas apresentem, mas usualmente as rolhas permanecem na estufa durante 48 horas.

Escolha eletrônica e manual

Uma segunda escolha permite que as rolhas divididas em raça boa, raça média e raça fraca, sejam separadas em diferentes classes visuais. Na Piedade S.A., as classes visuais (por ordem decrescente de qualidade), geralmente, são: Flor, Extra, Superior, 1º, 2º, 3º e 4º. As rolhas podem ser classificadas em apenas um tipo de classe visual ou em classes mistas, como Flor/extra ou 2º/3º.

Nesta etapa a escolha é feita eletronicamente e manualmente. Primeiro, é realizada uma contagem ótica dos poros através de máquinas eletrônicas, e depois é executado um controle visual (escolha manual) em que operários experientes inspecionam as rolhas vindas da escolha eletrônica e as que não preencherem os requisitos de qualidade pré-definida são removidas.

Marcação

A marcação consiste na personalização da superfície das rolhas com um logotipo e/ou texto conforme as especificações do cliente. Em termos de impressão, a empresa dispõe da impressão a tinta, a fogo e a laser.

Tratamento de superfície

Esta operação permite lubrificar a rolha, o que facilitará a sua inserção na garrafa e posterior extração, melhorando assim a sua capacidade de vedação. As superfícies das rolhas são tratadas com parafina e silicone.

Contagem, embalagem e armazenamento

Depois de concluída a produção, as rolhas são contadas e embaladas sob vácuo em sacos de plástico que contêm uma pequena dose de dióxido de enxofre. A utilização deste composto químico reduz drasticamente um possível desenvolvimento microbiológico. Seguidamente, os sacos são guardados em caixas de cartão.

Expedição

Por fim, se as rolhas estiverem de acordo com todas as especificações são expedidas para o respetivo cliente.

Quando os clientes não desejam rolhas marcadas e/ou tratadas, estas são contadas e armazenadas em sacos de ráfia sem dióxido de enxofre, após a etapa da escolha manual e enviadas para os clientes quando todas as especificações estiverem satisfeitas.

3.2. Parâmetros que possam ter influência nos níveis de TCA nas rolhas

O principal desafio que a Piedade S.A. enfrenta atualmente é garantir que todas as rolhas produzidas não libertem níveis de TCA detetáveis. Devido à alta exigência dos clientes e à grande competitividade nesta indústria, a empresa tem procurado encontrar e solucionar pontos críticos que estejam a colaborar na contaminação das rolhas pelo TCA. Para que a empresa consiga combater este problema, torna-se necessário clarificar quais os passos do processo produtivo que podem estar na origem de possíveis contaminações.

Depois de efetuado um estudo a todas as etapas do processo produtivo, desde a chegada das pranchas de cortiça oriundas da unidade industrial Sá e Sobrinho S.A. até à expedição do produto final, a rolha de cortiça natural, detetaram-se cinco parâmetros que podem ter influência nos níveis de TCA nas rolhas: as condições em que estão armazenadas as rolhas durante o seu processo de fabricação, o não isolamento das pranchas de cortiça não rolhável, uma possível contaminação da estufa e a falta de controlo da temperatura e humidade da fábrica.

Entre as etapas do processo produtivo, as rolhas são armazenadas em quatro tipos de contentores: sacos de rede, sacos de rafia, contentores e sacos que contêm dióxido de enxofre. Nas três primeiras situações, as rolhas mantêm-se em contacto direto com o meio ambiente, dado que os sacos de rafia e os contentores não se encontram fechados no topo, exceto, no caso dos sacos de rafia, quando são expedidos para o cliente. A existência de TCA omnipresente no ambiente da fábrica, pode possibilitar a absorção deste pelas rolhas em contacto com o ambiente em períodos muito curtos (24 horas), em consequência da sua elevada capacidade de absorção de cloroanións transmitidos por via aérea ^{[19][45]}. Portanto, as condições em que se encontram guardadas as rolhas durante todo o processo produtivo poderão contribuir para os níveis de TCA presente nas rolhas. Na Figura 6 encontram-se as diversas etapas do processo produtivo da unidade industrial, e onde são utilizados os sacos de rede (setas verdes), os sacos de rafia (setas azuis), os contentores (setas amarelas) e os sacos com dióxido de enxofre (setas vermelhas).

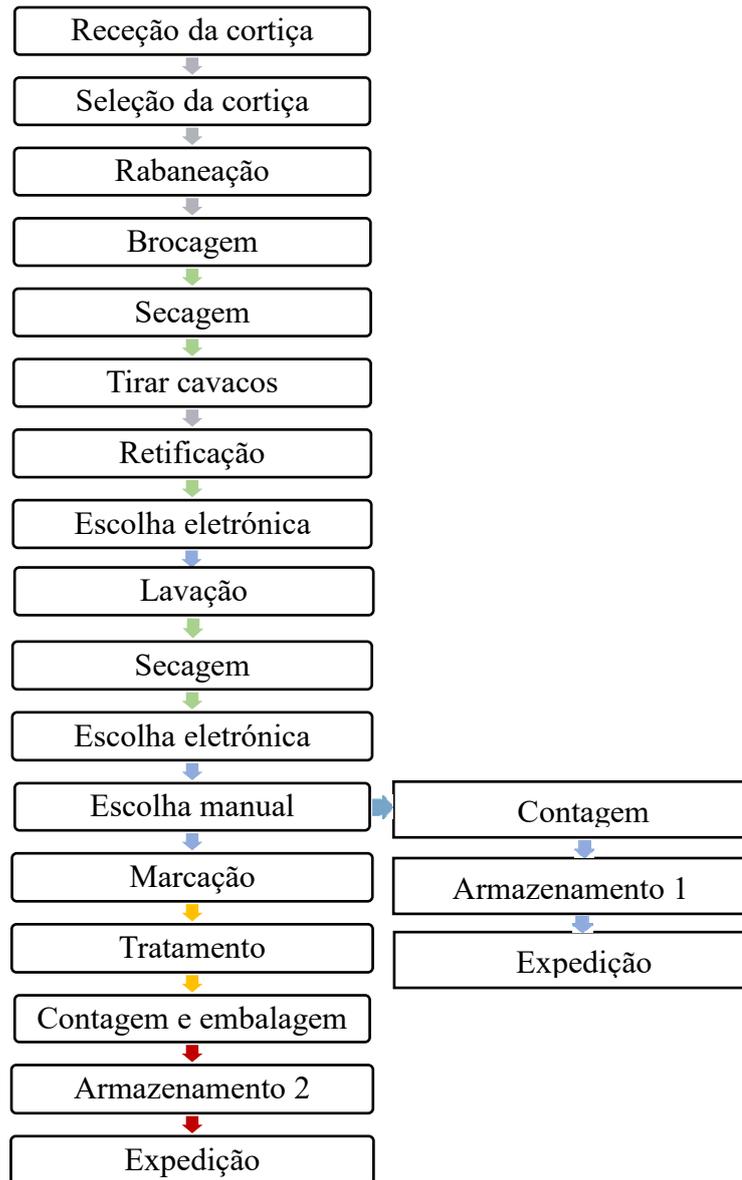


Figura 6-Fluxograma do processo produtivo da unidade industrial Piedade S.A. e entre que etapas são utilizados os diferentes tipos de contentores (Setas cinzentas: não se utiliza sacos nem contentores, setas verdes: sacos de rede, setas azuis: sacos de ráfia, setas amarelas: contentores e setas vermelhas: sacos que contêm dióxido de enxofre).

Quando chega da unidade industrial Sá e Sobrinho S.A., a cortiça em forma de prancha, vem dividida em dois tipos: a que será transformada em rolhas de cortiça por dispor de uma espessura e qualidade adequadas para esse fim (cortiça rolhável), e a que é imprópria por não exibir uma dessas características (cortiça não rolhável), sendo aplicada no fabrico de outros produtos. Como a cortiça não rolhável é uma cortiça de menor qualidade pode encontrar-se contaminada, pelo que deveria estar completamente isolada de todo o processo

de produção das rolhas. Porém, isso não acontece, e essa cortiça é armazenada juntamente com cortiça rolhável, no sector de receção e seleção das pranchas (Figura 6), até ser separada por diferentes calibres, e só depois é transferida para um armazém destinado a guardar unicamente esse tipo de cortiça. Como a cortiça liberta espontaneamente TCA para o ambiente ^[46], a presença de cortiça não rolhável pode contaminar as pranchas que serão empregues na produção das rolhas. Posto isto, o não isolamento imediato da cortiça não rolhável pode ser um dos parâmetros que provoca níveis elevados de TCA nas rolhas.

A estufa também pode ser um dos pontos críticos do processo produtivo quanto aos níveis de TCA existente nas rolhas. Rolhas contaminadas podem ser secas em conjunto com rolhas livres de TCA, o que poderá provocar uma indesejável contaminação destas últimas pelas primeiras, ou enquanto as rolhas contaminadas estão a secar (aproximadamente 48 horas) podem também libertar TCA para o ar, contaminando assim a atmosfera da estufa, e consequentemente esse TCA poderá migrar para as rolhas de cortiça que posteriormente serão secas. Ademais, como o ar que circula na estufa provém do ar do interior da fábrica, este pode-se encontrar contaminado.

Relativamente à temperatura e à humidade da fábrica, estas não são controladas, o que implica que as condições ambientais dependam da estação do ano em que nos encontramos. Durante o estudo do processo produtivo, verificou-se que nem sempre a temperatura se encontrava dentro dos valores adequados de acordo com a literatura (entre 15 °C e 20 °C ^[18]). Neste aspeto, o sector mais crítico foi o do armazenamento de rolhas que não são submetidas aos processos de marcação e/ou tratamento (armazenamento 1- Figura 6), devido a este sector se encontrar menos ventilado por estar mais resguardado do exterior, o que faz com que a sua temperatura seja superior à temperatura das outras divisões. Uma temperatura e uma humidade desajustadas permite aos bolores desenvolverem-se, podendo originar TCA ^[21].

4. Procedimento experimental

Após a identificação dos parâmetros que possivelmente interferem nos níveis de TCA presente nas rolhas produzidas pela empresa, ou seja, as condições de armazenamento das rolhas, o não isolamento imediato das pranchas de cortiça não rolhável, a ausência de controle da temperatura e humidade da fábrica e uma possível contaminação da estufa, realizou-se estudos com o propósito de perceber se realmente esses parâmetros são pontos críticos no que diz respeito à contaminação das rolhas devido ao composto TCA.

4.1. Materiais, reagentes, solventes e equipamentos

Para a realização deste trabalho, necessitou-se dos seguintes materiais, reagentes, solventes e equipamentos:

Materiais

- ❖ Rolhas
- ❖ Sacos de rafia
- ❖ Frascos de vidro de 250 mL
- ❖ Frascos de armazenamento de 100 mL
- ❖ Tampas

Reagentes

- ❖ Álcool etílico (99,9 % v/v)

Solventes

- ❖ Água destilada

Equipamentos:

- ❖ MedCork (Medidor do comprimento, do diâmetro, do peso e da humidade das rolhas).

4.2. Plano de trabalho

4.2.1. Estudos realizados

De modo a compreender como as condições de armazenamento das rolhas influencia a quantidade de TCA, efetuou-se dois estudos: um em que se colocou rolhas em contacto direto com o meio ambiente (estudo 1) e outro em que não estavam em contacto direto com o mesmo (estudo 2).

No caso da temperatura, o objetivo foi perceber como varia a concentração de TCA nas rolhas quando são expostas a temperaturas que não estão de acordo com os valores indicados na bibliografia. Para tal, realizou-se dois estudos: um em que as rolhas permaneceram armazenadas a uma temperatura inferior ao recomendado ($T=6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) (estudo 3), e um a uma temperatura superior ($T=40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) (estudo 4).

Com o intuito de verificar se a não separação da cortiça não rolhável do processo produtivo interfere nos níveis de TCA presente nas rolhas, colocou-se rolhas em contacto com pranchas de cortiça não rolhável (estudo 5), e rolhas num sector que estava completamente isolado deste tipo de cortiça (estudo 6).

De maneira a analisar se a estufa se encontrava contaminada, realizou-se dois estudos: um em que as rolhas foram secas na estufa (estudo 7), e outro em que as rolhas não prosseguiram para essa etapa (estudo 8). O objetivo destes dois estudos, pretendeu não só averiguar se realmente a estufa é um dos pontos críticos do processo produtivo da fábrica, mas também como varia a concentração de TCA em rolhas de cortiça com um teor de humidade superior e dentro dos valores desejados, visto que as rolhas retiradas depois da etapa de secagem na estufa apresentavam um teor de humidade dentro dos valores recomendáveis ($6\% \pm 2\%$), enquanto que as rolhas recolhidas a seguir à lavagem exibiam valores superiores (Anexo I).

4.2.2. Rolhas

Para a realização dos estudos descritos anteriormente utilizou-se somente rolhas de cortiça natural, recolhidas do mesmo lote, com um calibre de 45 mm x 24 mm e uma classe visual de 2º/4º. Retirou-se as rolhas do processo produtivo após terem sido submetidas à etapa de lavagem e posterior secagem, à exceção das que se utilizou para o estudo das rolhas secas à temperatura ambiente (estudo 7), que foram recolhidas logo depois da lavagem. Para cada estudo foram necessárias 420 rolhas, perfazendo um total de 2520 rolhas.

4.2.3. Armazenamento das rolhas

As rolhas foram acondicionadas em sacos de rafia. O saco do estudo para as condições de armazenamento quando as rolhas não estavam expostas diretamente ao meio ambiente (estudo 2) foi fechado no topo. Para os restantes estudos os sacos de rafia encontravam-se abertos.

4.2.4. Armazenamento dos sacos

Os sacos para o estudo das condições de armazenamento das rolhas (estudos 1 e 2) e da estufa (estudos 7 e 8) foram colocados no sector de armazenamento 1 (ver Figura 6, Página 26). Como as rolhas para o estudo 1, 6 e 7 se encontravam nas mesmas condições e no mesmo local, utilizou-se somente um saco para os três estudos.

O saco para o estudo da influência da cortiça não rolhável na concentração de TCA nas rolhas (estudo 5) foi colocado junto a pranchas desse tipo de cortiça.

Os sacos para o estudo da influência da temperatura foram posicionados em sítios diferentes. O que pretendeu estudar o efeito na concentração de TCA de rolhas armazenadas a uma temperatura inferior à temperatura recomendada, foi colocado num frigorífico. Para o estudo a uma temperatura superior, colocou-se o saco na estufa, onde são secas as rolhas que provêm da lavagem. A estufa funcionou a $40\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ e o frigorífico a $6\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

Os sacos estiveram armazenados nos devidos locais durante 6 semanas.

4.2.5. Macerações das rolhas de cortiça

Antes de quantificar o TCA, foi necessário extrair este composto das rolhas através de uma operação chamada de maceração.

Para cada estudo retirou-se, 1 vez por semana, 60 rolhas dos devidos sacos. Para a realização das macerações, introduziu-se em cada frasco de vidro de 250 mL, 4 rolhas de cortiça natural e completou-se o volume com solução etanólica a 12 % (v/v), simulando o contacto das rolhas de cortiça com o vinho. Fechou-se os frascos com as respetivas tampas e deixou-se a macerar durante 24 horas à temperatura ambiente. Após esse período de tempo, homogeneizou-se e transferiu-se os macerados para frascos de armazenamento de 100 mL. Posteriormente, os frascos foram enviados para a Pietec cortiças S.A. onde foi realizado, pelo responsável do laboratório, a identificação e quantificação do TCA por microextração em fase sólida com separação por cromatografia gasosa e deteção por espectrometria de massa (SPME-GC/MS).

4.2.6. Quantificação do TCA por SPME-GC/MS

Após as macerações preparou-se as amostras a serem analisadas por SPME-GC/MS. Em frascos de 20 mL com cerca de 2 g de cloreto de sódio, adicionou-se 10 mL de macerado. Seguidamente, acrescentou-se 100 µL de d₅-TCA (padrão interno), fechou-se os frascos com uma cápsula magnética e agitou-se para possibilitar a mistura. Concluída a preparação das amostras, estas foram inseridas no suporte de amostras do amostrador automático, tendo sido analisadas uma de cada vez. Com o objetivo de garantir a qualidade dos resultados, foi colocada também uma solução padrão com cerca de 2 g de cloreto de sódio, 10 mL de solução alcoólica, 40 µL de TCA e 100 µL de d₅-TCA (concentração 2 ppt em termos de TCA).

Colocou-se o frasco com a amostra num incubador durante 2 minutos. De seguida, a fibra polidimetilsiloxano (PDMS) foi exposta ao espaço livre do frasco durante 15 minutos, a uma temperatura de 40 °C e a uma velocidade de agitação de 250 rpm, a fim de adsorver os compostos voláteis. Posteriormente, estes compostos foram desorvidos da fibra para o injetor do cromatógrafo em fase gasosa durante 4 minutos a uma temperatura de 270 °C. Por

fim, o gás hélio arrastou os compostos ao longo da coluna cromatográfica, até ao detetor onde foram identificados e quantificados por espectrometria de massa.

4.2.7. Medição de temperaturas e humidades

Todos os dias, por diversas vezes leu-se a temperatura ambiente da estufa e a sua humidade, com o propósito de verificar se a estufa se encontrava no intervalo de temperatura pretendido ($T = 40\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$). Ademais, por meio de um dispositivo, com uma incerteza associada de $\pm 0,5\text{ °C}$, monitorizou-se a temperatura e a humidade da fábrica.

Mediu-se a humidade de todas as rolhas usadas para as macerações através de um equipamento chamado “MedCork”, com uma incerteza associada de $\pm 0,1\%$ no que diz respeito à medição da humidade.

4.3. Tratamento de dados

Os resultados (Anexo II) oriundos dos estudos experimentais foram organizados, analisados e interpretados recorrendo à análise estatística. Os resultados foram organizados e resumidos em gráficos de barras para que fosse mais fácil estabelecer a relação entre a concentração de TCA e as duas condições para cada parâmetro e semanas. Apresentou-se o valor médio de concentração de TCA da amostra e o respetivo intervalo de confiança ao longo das semanas. Para a análise e interpretação dos resultados, além dos gráficos de barras, aplicou-se a análise de variância (ANOVA) com um nível de significância de 5 %.

A verificação da existência de valores atípicos foi feita pelo teste de Grubbs^[47]:

$$G = \frac{|\text{valor suspeito} - \bar{x}|}{s} \quad (1)$$

onde \bar{x} é a média da amostra e s é o seu desvio padrão. Se o valor de $|G|$ for superior ao valor crítico tabelado, o valor suspeito é um valor atípico.

Com o objetivo de avaliar se as condições estudadas para cada parâmetro (fator 1) e as diferentes semanas (fator 2) influenciaram significativamente a concentração de TCA nas rolhas, foram realizadas análises de variância (ANOVA) duplas com repetição, recorrendo ao Microsoft Office Excel 2016, em que as conclusões foram obtidas tendo em conta o valor de F e $F_{\text{crítico}}$ apresentados nas tabelas (Capítulo 5).

No estudo do efeito das estações do ano na concentração de TCA nas rolhas e na sua humidade, os dados (Anexo III e IV) foram organizados, interpretados e analisados com recurso a gráficos de barra, de linha e de dispersão.

5. Resultados e discussão

5.1. Estudo do efeito das condições de armazenamento na concentração de TCA extraído das rolhas

A Figura 7 mostra como variou a concentração média de TCA extraído das rolhas que permaneceram expostas por um período de 6 semanas ao ambiente da fábrica (saco aberto) e das que não estiveram diretamente em contacto com o mesmo (saco fechado).

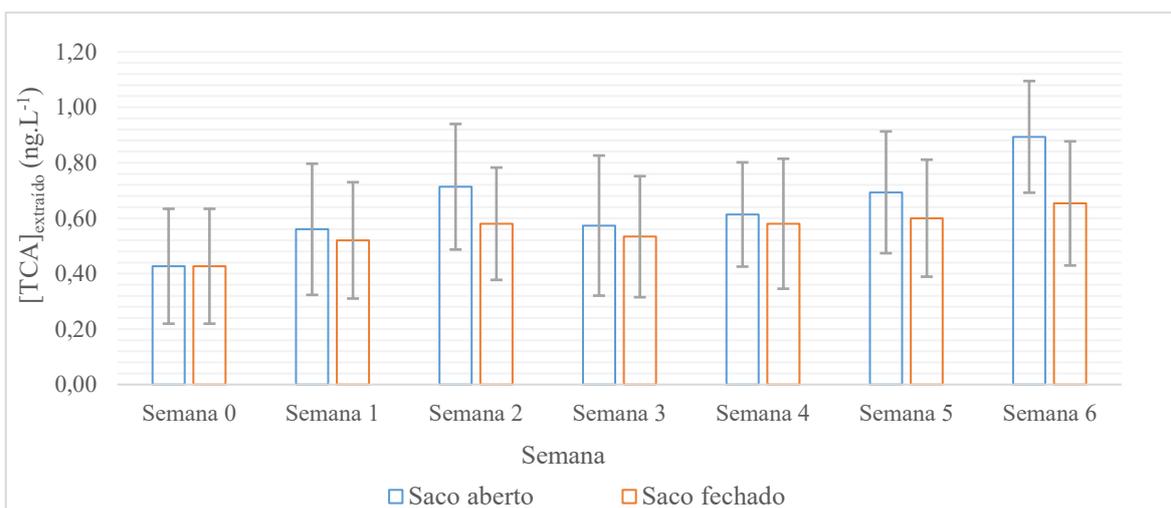


Figura 7-Representação gráfica $(\bar{x} \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}})$ da concentração média de TCA extraído das rolhas do saco aberto e do saco fechado ao longo das 6 semanas.

Durante o estudo, o ambiente do sector não se encontrava com níveis elevados de TCA, visto que as rolhas tanto do saco aberto como do saco fechado, não alcançaram uma concentração média de TCA extraído próximo nem superior a 1,5 ng.L⁻¹ no decurso das 6 semanas (Figura 7), valor a partir do qual os lotes são rejeitados por as rolhas poderem transmitir ao vinho um sabor a mofo indesejado que será detetado pelos consumidores.

Em conformidade com a tabela da ANOVA (Tabela 3), verificou-se que não existem evidências de diferenças significativas ($F < F_{\text{crítico}}$) entre as duas condições de armazenamento estudadas (saco aberto e saco fechado) na concentração de TCA nas rolhas, isto é, as rolhas ao permanecerem praticamente durante todo o processo produtivo em

contacto com a atmosfera da unidade industrial, não vão apresentar de forma significativa mais TCA do que se estivessem guardadas em sacos de rafia fechados no topo. Pela Tabela 3, inclusive, concluiu-se que para as duas condições estudadas a concentração de TCA não diferiu significativamente entre as diferentes semanas, nem existiu qualquer interação entre as condições de armazenamento e as semanas na concentração de TCA. Embora não se tenha verificado diferenças significativas entre as semanas, parece ter ocorrido um aumento da concentração de TCA extraído das rolhas no estudo do saco aberto na segunda semana (Figura 7), devido provavelmente à enorme heterogeneidade da cortiça, uma vez que esta matéria-prima é um produto natural.

Tabela 3-ANOVA dupla com repetição para o estudo do efeito das condições de armazenamento na concentração de TCA extraído das rolhas ao longo das 6 semanas.

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F	p	F _{crítico}
Condições de armazenamento	0,36	1	0,36	1,57	0,21	3,89
Semanas	2,11	6	0,35	1,53	0,17	2,15
Interações	0,30	6	0,05	0,22	0,97	2,15
Residual	44,98	196	0,23	-	-	-
Total	47,75	209	-	-	-	-

5.2. Estudo do efeito da cortiça não rolhável na concentração de TCA extraído das rolhas

Este estudo permitiu verificar se a colocação de cortiça imprópria para a fabricação de rolhas junto a cortiça rolhável é um dos pontos críticos do processo produtivo da Piedade S.A. Para tal, comparou-se (Figura 8 e Tabela 4) a concentração de TCA extraído das rolhas que permaneceram em contacto com pranchas de cortiça não rolhável ao longo das 6 semanas, com a concentração de TCA extraído das rolhas que estiveram localizadas no sector de Armazenamento 1 (Figura 6- Pagina 26), sector em que não havia esse tipo de cortiça.

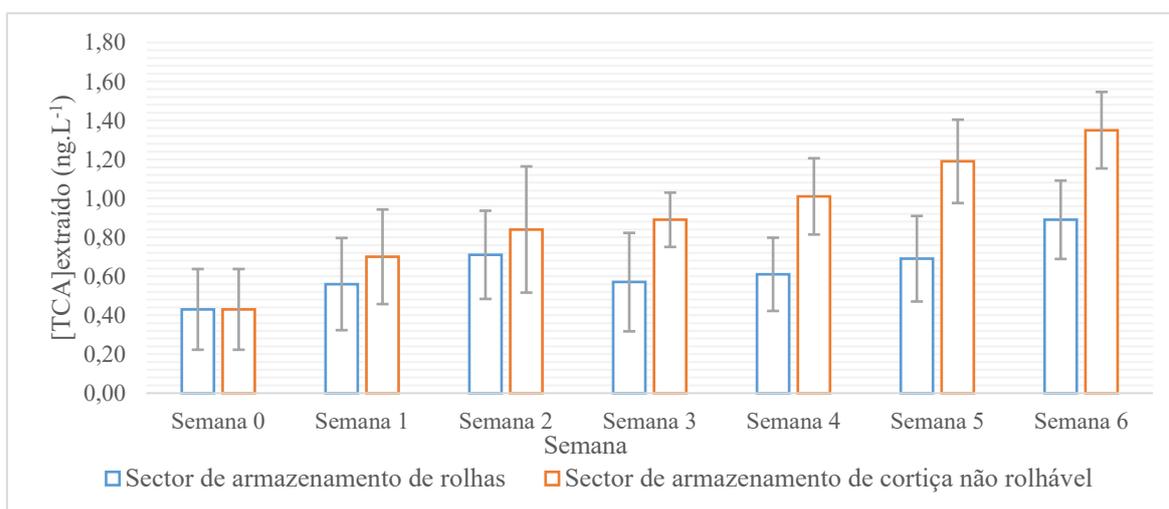


Figura 8-Representação gráfica $(\bar{x} \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}})$ da concentração média de TCA extraído das rolhas do saco armazenado no sector de armazenamento 1 e do saco em contacto com cortiça não rolhável ao longo das 6 semanas.

Tabela 4-ANOVA dupla com repetição para o estudo do efeito da cortiça não rolhável na concentração de TCA extraído das rolhas ao longo das 6 semanas.

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F	p	F _{crítico}
Condições estudadas	4,03	1	4,03	17,01	5,48x10 ⁻⁵	3,89
Semanas	8,86	6	1,48	6,23	5,21x10 ⁻⁶	2,15
Interações	1,63	6	0,27	1,15	0,34	2,15
Residual	46,45	196	0,24	-	-	-
Total	60,98	209	-	-	-	-

De acordo com ANOVA (Tabela 4), verificou-se que existem diferenças significativas ($F > F_{\text{crítico}}$) na concentração de TCA extraído das rolhas aquando da presença ou ausência de pranchas de cortiça não rolhável. As rolhas que obtiveram significativamente uma menor concentração de TCA extraído ao longo das semanas foram as que estiveram separadas deste tipo de pranchas, como é possível constatar pela Figura 8. Este estudo confirmou as suspeitas iniciais de que as pranchas de cortiça não rolhável não devem estar em nenhuma circunstância perto de pranchas de cortiça que serão empregues na produção das rolhas nem presentes em qualquer etapa do processo, já que afetam a concentração de TCA existente nas rolhas acabadas. Quanto mais tempo as rolhas e as pranchas estiverem em contacto com cortiça não rolhável, maior será a concentração de TCA nestas (Figura 8). Concluiu-se também, que não existiu interação entre as condições estudadas (sector de armazenamento de rolhas e sector de armazenamento de cortiça não rolhável) e as semanas na concentração de TCA, mas existiu pelo menos uma semana em que a concentração de TCA foi significativamente diferente das restantes no estudo das rolhas em contacto com cortiça não rolhável (ANOVA com um fator).

5.3. Estudo do efeito da estufa e da humidade na concentração de TCA extraído das rolhas

Com este estudo procurou-se estabelecer uma relação entre a concentração de TCA e a humidade das rolhas, bem como averiguação de uma possível contaminação da estufa, através da comparação da concentração de TCA extraído de rolhas armazenadas após a sua secagem numa estufa, com rolhas secas à temperatura ambiente depois de terem sido lavadas (Figura 9).

No início do estudo, as rolhas secas à temperatura ambiente e na estufa apresentavam um teor médio de humidade de 11,1 % e 5,5 %, respetivamente (Anexo I).

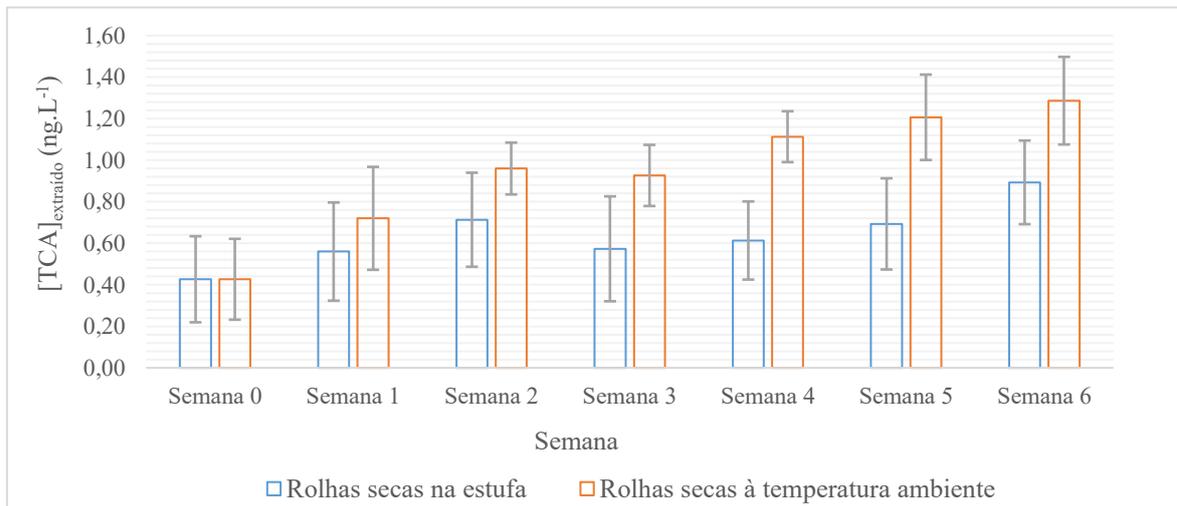


Figura 9-Representação gráfica $(\bar{x} \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}})$ da concentração média de TCA extraído das rolhas secas na estufa e das que foram secas à temperatura ambiente ao longo das 6 semanas.

Por análise da Figura 9, verificou-se que na semana inicial (semana 0) não houve diferenças na concentração média de TCA extraído nas duas condições estudadas. As rolhas retiradas do processo produtivo logo após a lavagem, exibiram uma concentração média de TCA extraído de $0,43 \pm 0,19 \text{ ng.L}^{-1}$, e as rolhas que ainda foram sujeitas à etapa de secagem na estufa apresentaram também uma concentração média de TCA de $0,43 \pm 0,21 \text{ ng.L}^{-1}$. Se atmosfera da estufa estivesse realmente contaminada, as rolhas teriam apresentado valores de TCA superiores ao das rolhas que não passaram por essa etapa, já que as rolhas permaneceram 48 horas dentro da estufa e o TCA omnipresente numa atmosfera necessita

apenas de cerca de 24 horas para migrar para as rolhas. Assim sendo, a contaminação da estufa não era um dos parâmetros críticos no momento em que foi efetuado este trabalho.

Através da Tabela 5, constatou-se que existem diferenças significativas ($F > F_{\text{crítico}}$) entre as duas condições estudadas na concentração de TCA nas rolhas. Embora a partir da primeira semana, também as rolhas utilizadas para o estudo da sua secagem por meio das condições ambientais da fábrica apresentassem valores médios de humidade adequados (Anexo I), a concentração média de TCA extraído foi estatisticamente superior ao das rolhas secas na estufa (Figura 9). Uma explicação plausível para essa diferença, é o facto de que uma humidade elevada das rolhas na semana inicial ter permitido aos microrganismos desenvolverem-se e estes, por sua vez, em contacto com o precursor do TCA levaram à sua formação. Assim, rolhas com uma humidade superior a 8 % possuem de forma significativa mais TCA que rolhas com valores de humidade desejados ($6 \% \pm 2 \%$), o que permitiu concluir que um controlo da humidade das rolhas é um fator decisivo para que estas não contenham níveis de TCA elevados. Para manter a humidade das rolhas durante todo o processo produtivo nos valores pretendidos, a etapa de secagem na estufa é essencial, mas por si só não é suficiente. É necessário que a humidade da fábrica seja controlada, porque um ambiente demasiado húmido faz com que as rolhas em contacto com este fiquem mais húmidas, aumentando o seu teor de humidade.

Para finalizar, a ANOVA (Tabela 5) também permitiu concluir que não existiu nenhuma interação entre as condições estudadas e as semanas, mas houve pelo menos uma semana em que a concentração média de TCA foi estatisticamente distinta das demais para o estudo das rolhas secas à temperatura ambiente (ANOVA um fator).

Tabela 5-ANOVA dupla com repetição para o estudo do efeito da estufa e da humidade na concentração de TCA extraído das rolhas ao longo das 6 semanas.

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F	p	F _{crítico}
Condições estudadas	5,03	1	5,03	25,22	$1,15 \times 10^{-6}$	3,89
Semanas	8,37	6	1,40	7,00	$9,26 \times 10^{-7}$	2,15
Interações	1,57	6	0,26	1,31	0,25	2,15
Residual	39,09	196	0,20	-	-	-
Total	54,06	209	-	-	-	-

5.4. Estudo do efeito da temperatura na concentração de TCA extraído das rolhas

Como a temperatura da unidade industrial não é controlada, esta depende das condições climáticas, pelo que nem sempre se encontra dentro dos limites recomendados na literatura (entre 15 °C e 20 °C). Com este estudo pretendeu-se compreender o efeito na concentração de TCA extraído das rolhas de uma temperatura inferior (6 °C ± 1 °C) e superior (40 °C ± 5 °C) às recomendadas (Figura 10 e Tabela 6).

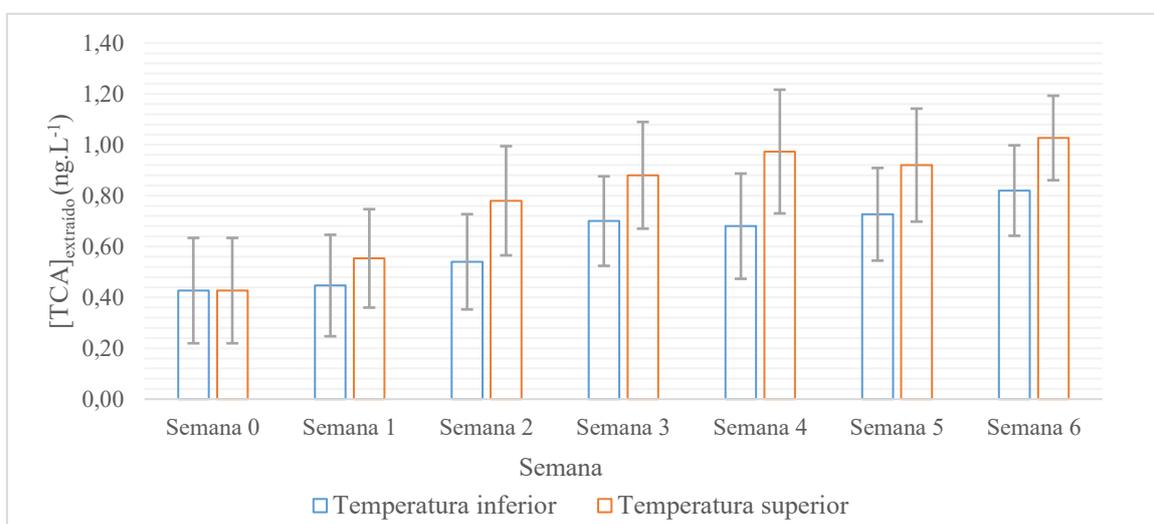


Figura 10-Representação gráfica $\left(\bar{x} \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}}\right)$ da concentração média de TCA extraído das rolhas expostas a uma temperatura inferior e superior às recomendadas ao longo das 6 semanas.

Tabela 6-ANOVA dupla com repetição para o estudo do efeito da temperatura na concentração de TCA extraído das rolhas ao longo das 6 semanas.

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F	p	F _{crítico}
Temperaturas	1,59	1	1,59	8,19	0,00	3,89
Semanas	6,16	6	1,03	5,27	0,00	2,15
Interações	0,41	6	0,07	0,35	0,91	2,15
Residual	38,16	196	0,19	-	-	-
Total	46,32	209	-	-	-	-

Por intermédio da ANOVA (Tabela 6), concluiu-se que existem diferenças significativas ($F > F_{\text{crítico}}$) na concentração de TCA nas rolhas quando estas são armazenadas a temperaturas diferentes. Para uma temperatura elevada, as rolhas apresentam de forma significativa mais TCA do que as que ficam expostas a uma temperatura baixa (Figura 10). Também por meio da ANOVA, verificou-se que não houve nenhum efeito do termo de interação, mas houve um efeito significativo em pelo menos uma semana na concentração de TCA no estudo da temperatura superior à recomendada (ANOVA com um fator). Não obstante, não foi possível a realização deste estudo exclusivamente a depender da temperatura, podendo outros fatores terem contribuído para que a concentração de TCA extraído das rolhas que permaneceram na estufa, fosse significativamente superior ao TCA extraído das rolhas do frigorífico. Apesar de não ter sido possível controlar a humidade, o seu teor era baixo (entre 35 % e 40 %), pelo que este parâmetro não terá tido grande influência para que os níveis de TCA extraídos das rolhas da estufa fossem superiores aos das rolhas do frigorífico, dado que não é uma humidade relativa baixa que pode levar à formação de TCA, mas sim uma humidade relativa elevada^[42]. Já o ar que circulou na estufa pode ter contribuído para uma maior concentração de TCA extraído das rolhas. O ar que circulou na estufa, provinha do ar do interior da fábrica, mais especificamente do sector de rabaneação e brocagem, que está próximo do sector de receção e seleção da cortiça (Figura 6-Página 26), onde é armazenada cortiça não rolhável até ser separada por calibres. Como este tipo de cortiça se encontra com níveis mais elevados de TCA, pode ter contaminado o ar que, por sua vez, pode ter arrastado TCA para a estufa, contaminando assim as rolhas deste estudo, já que elas se mantiveram armazenadas durante 6 semanas neste local e em condições normais apenas permanecem 2 dias.

5.5. Estudo do efeito das estações do ano na concentração de TCA extraído e na humidade das rolhas

Como já referido anteriormente, o não controlo da temperatura e da humidade da unidade industrial, poderá ser uma das causas para os níveis elevados de TCA presentes nas rolhas. Não sendo controladas, estas são influenciadas pelas condições climatéricas do exterior que, por sua vez, dependem da estação do ano em que nos encontramos, pelo que é importante compreender se as estações do ano intervêm na concentração de TCA presente nas rolhas. Através dos dados (Anexo III) disponibilizados pela Piedade S.A. da concentração de TCA extraído de diferentes ensaios em 2016, realizou-se um estudo em que se verificou como variou a percentagem de ensaios com uma concentração de TCA extraído igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ nas diferentes raças de cortiça e no total (sem distinção das raças) nas quatro estações do ano (Figura 11).

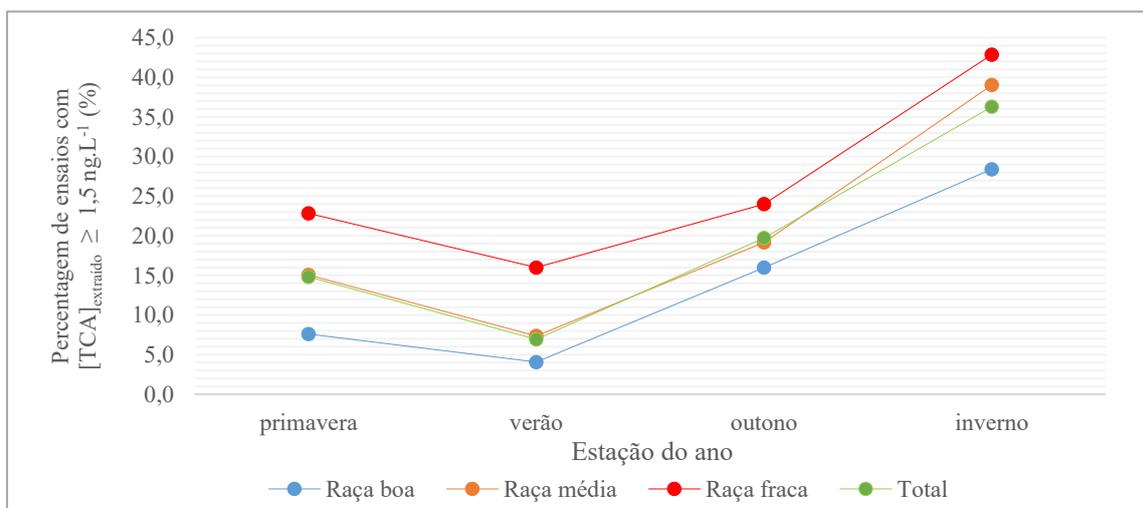


Figura 11-Percentagem de rolhas com $[\text{TCA}]_{\text{extraído}}$ igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ em cada estação do ano em 2016.

Por observação da Figura 11, verificou-se que a maior percentagem de ensaios com uma concentração de TCA extraído igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ em 2016 nas três raças de cortiça, foi verificada na estação do ano inverno (raça boa-28,4 %, raça média-39,0 % e raça fraca-42,9 %). O outono foi a segunda estação do ano apresentar uma maior percentagem (raça boa-16,0 %, raça média-19,2 % e raça fraca-24,0 %), seguido da primavera (raça boa-

7,6 %, raça média-15,1 % e raça fraca-22,8 %) e por fim do verão (raça boa-4,1 %, raça média-7,4 % e raça fraca-16,0 %). No total, a percentagem de ensaios com uma concentração de TCA extraído superior ao limite aceitável no inverno, no outono, na primavera e no verão foi de 36,3 %, 19,8 %, 14,9 % e 7,0 %, respetivamente. Com este estudo, concluiu-se que o inverno foi a estação do ano mais crítica quanto à contaminação das rolhas pelo composto TCA em 2016.

Analisando os ensaios de acordo com a qualidade da cortiça, constatou-se que rolhas de cortiça de menor qualidade (raça fraca), isto é, rolhas com maior porosidade, revelaram uma maior percentagem de ensaios com uma concentração de TCA extraído de pelo menos $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ em todas as estações, quando comparada com as percentagens das outras duas qualidades, raça média e principalmente da raça boa. Desta forma, concluiu-se que a concentração de TCA extraído das rolhas também depende da sua qualidade visual.

Além do estudo da variação da percentagem de ensaios com uma concentração de TCA extraído igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ em cada estação do ano, procurou-se compreender como variou o teor de humidade das rolhas em 2016 nas diferentes estações do ano (Figura 12 e Anexo IV).

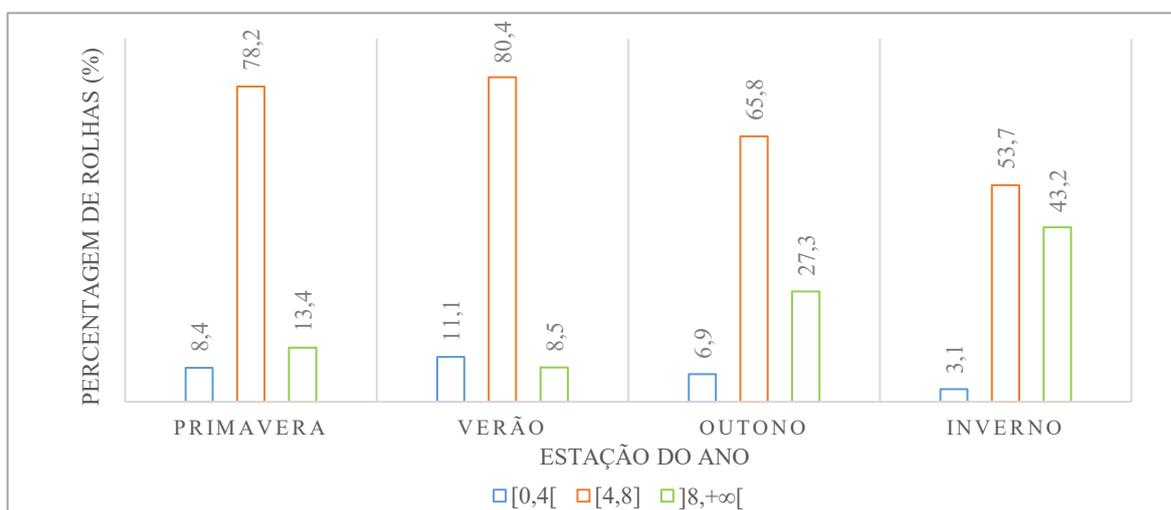


Figura 12-Percentagem de rolhas com um teor de humidade inferior, igual e superior aos recomendados nas quatro estações do ano em 2016.

No inverno, apenas 53,7 % das rolhas analisadas possuíam um teor de humidade dentro dos valores recomendados ([4,8]), sendo que 43,2 % das rolhas apresentaram uma humidade superior a 8 %. No entanto, só 3,1 % das rolhas alcançaram um teor de humidade inferior ao aconselhável. Em contrapartida, o verão foi a estação do ano em que a percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 % foi menor, apenas 8,5 % das rolhas ultrapassaram esse valor, mas foi a estação do ano em que se verificou uma maior percentagem de rolhas com um teor de humidade inferior a 4 % (11,1 % das rolhas). A seguir ao inverno, o outono exibiu a maior e menor percentagem de rolhas com valores de humidade acima dos 8 % e abaixo dos 4 %, respetivamente. Por fim, na primavera a percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 % foi de 13,4 % e de 8,4 % de rolhas com um teor inferior ao recomendado (Figura 12).

A elevada percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 % no inverno, em comparação com as restantes estações do ano, foi devida essencialmente ao facto de o ambiente da unidade industrial nessa altura do ano ter estado mais húmido, provavelmente com uma humidade superior à recomendada pela literatura, causando uma maior humidade nas rolhas armazenadas e dificultando a sua secagem na estufa.

Com o intuito de perceber se existe uma relação entre rolhas com uma humidade superior à aconselhável e a concentração de TCA nas rolhas, representou-se num diagrama de dispersão (Figura 13) a percentagem de ensaios com uma concentração de TCA igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ em função da percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 % em cada estação do ano em 2016.

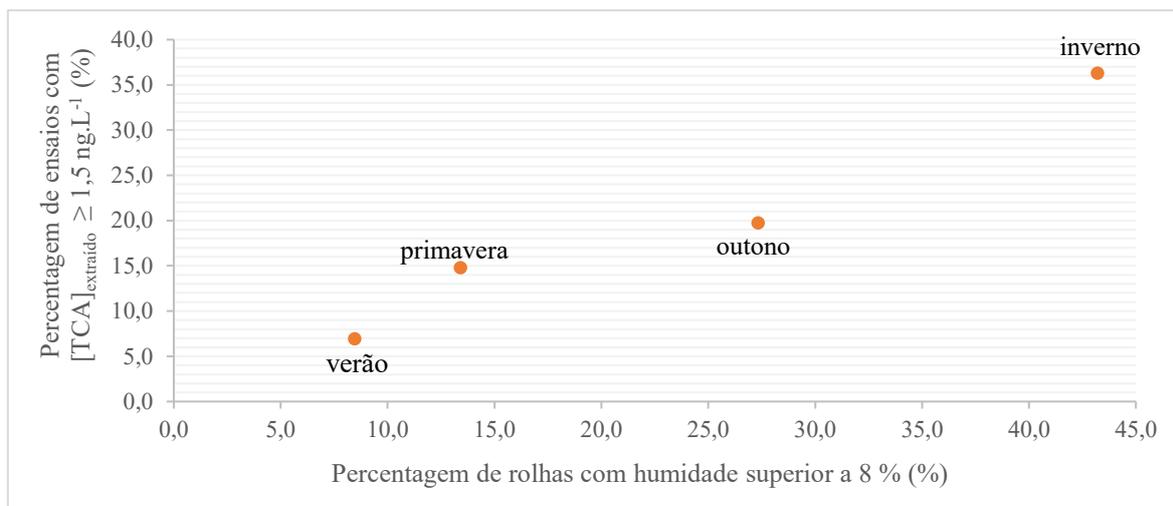


Figura 13- Percentagem de ensaios com $[TCA]_{\text{extraído}} \geq 1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ em função da percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 %.

Por observação da Figura 13, percebeu-se que uma baixa percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 % está relacionada com uma baixa percentagem de ensaios com uma concentração de TCA igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$, enquanto que uma alta percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 % está associada a uma alta percentagem de ensaios com uma concentração igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$, isto é, quanto maior a percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 %, maior é a percentagem de rolhas com níveis de TCA inaceitáveis.

Em suma, este estudo do efeito das estações do ano na concentração de TCA nas rolhas e na humidade das mesmas, permitiu a observação de conclusões importantes. Quanto maior a humidade relativa do ar da unidade industrial, maior a dificuldade em secar as rolhas na estufa devido ao ar estar mais húmido e, portanto, maior o número de rolhas com uma humidade superior ao valor recomendado, e por consequência, maior o número de rolhas com uma concentração de TCA inaceitável por parte dos clientes.

6. Conclusões

O presente trabalho permitiu estudar o efeito de alguns parâmetros do processo produtivo da Piedade S.A. na concentração de TCA presente nas rolhas de cortiça.

A utilização de sacos de rafia fechados no topo ao longo do processo produtivo, em substituição dos sacos de rede, sacos de rafia abertos no topo e contentores, não favorece de forma significativa a redução da concentração de TCA nas rolhas. Assim sendo, não se justifica a alteração das atuais condições de armazenamento das rolhas para sacos de rafia fechados no topo.

Verificou-se que a colocação de pranchas de cortiça não rolhável no processo produtivo, até estas serem agrupadas em diferentes calibres, é um fator que contribui para os níveis de TCA presentes nas rolhas. É necessário isolar este tipo de cortiça, para que a empresa consiga obter rolhas de cortiça com concentrações de TCA mais baixas.

A suspeita inicial de que a estufa se encontrava contaminada não se confirmou. Como as rolhas que foram à estufa por um período de tempo de 48 horas revelaram uma concentração média de TCA extraído igual às que não procederam para esta etapa, concluiu-se que a estufa não se encontrava contaminada com TCA aquando da realização deste trabalho, já que o TCA existente numa atmosfera precisa de somente 24 horas para se transferir para as rolhas.

Com este trabalho reforçou-se a ideia de que as rolhas não devem conter um teor de humidade superior a 8 % depois da etapa da estufa, mesmo que as condições climatéricas favoreçam a posteriori a sua secagem para teores de humidade adequados, devido ao risco acrescido de os microrganismos se desenvolverem e, em contacto com o TCP, formarem TCA, originando rolhas com uma concentração de TCA significativamente mais elevada do que rolhas que apresentem sempre uma humidade adequada. Uma elevada humidade relativa do ar, também leva a um aumento da humidade das rolhas.

O estudo do efeito a uma temperatura superior e inferior às recomendadas na concentração de TCA, mostrou que as rolhas apresentam uma concentração de TCA significativamente superior quando são expostas a uma temperatura elevada do que a uma temperatura baixa. Contudo, não foi possível a execução deste estudo unicamente a depender deste parâmetro, não permitindo assim excluir de todo, a hipótese de esta conclusão não ser completamente verdadeira.

Este trabalho permitiu também constatar que as estações do ano influenciaram a percentagem de ensaios com uma concentração de TCA extraído das rolhas igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ e o teor de humidade das rolhas em 2016. O inverno foi sem sombra de dúvidas a estação do ano mais crítica, seguido do outono, primavera e por último do verão. A percentagem de ensaios com uma concentração de TCA extraído das rolhas igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ está relacionada com a percentagem de rolhas com uma humidade superior a 8 %, isto é, quanto maior o número de rolhas com um teor de humidade acima do recomendável, maior o número de ensaios com uma concentração de TCA extraído das rolhas de pelo menos $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$. Por sua vez, uma percentagem alta de rolhas com um teor de humidade superior à recomendada é devida principalmente a uma humidade relativa do ar elevada. Se as condições atmosféricas de cada estação ao longo dos anos forem similares às verificadas no ano de 2016, a falta de controlo da temperatura e da humidade da unidade industrial continuarão a ser dois parâmetros extremamente críticos relativamente à contaminação das rolhas pelo composto TCA, principalmente no inverno.

No ano de 2016, verificou-se que uma menor percentagem de ensaios com uma concentração de TCA extraído igual ou superior a $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ nas quatro estações do ano estava associada a cortiça de melhor qualidade, e uma maior percentagem estava relacionada com rolhas de cortiça de menor qualidade, concluindo-se que a concentração de TCA extraído das rolhas também depende da sua qualidade visual.

Para rematar, a aplicação de algumas medidas corretivas poderá possibilitar a redução da concentração de TCA presente nas rolhas fabricadas pela Piedade S.A.

7. Propostas de ações de melhoria, recomendações e trabalhos futuros

Tendo em conta as conclusões obtidas neste trabalho para os parâmetros estudados, foram propostas ações de melhoria e recomendações com a finalidade de prevenir a formação de TCA e a redução da sua concentração nas rolhas fabricadas pela Piedade S.A.

Embora a estufa, não se encontrasse contaminada no momento da realização do presente trabalho (quando as rolhas permaneceram nesta durante 2 dias), é importante controlar durante todo o ano a ausência de contaminação pelo composto TCA e/ou seu precursor, não só da sua atmosfera, mas também de toda atmosfera da unidade fabril. Este controlo pode ser feito com ajuda de dispositivos de monitorização de compostos orgânicos voláteis (COV) em atmosferas.

As pranchas de cortiça rolhável não devem ser transportadas desde a Sá e Sobrinho S.A. até à Piedade S.A. simultaneamente com pranchas de cortiça não rolhável, devido à possibilidade destas últimas poderem contaminar as que serão empregues na produção e fabricação de rolhas. A transportação de apenas um tipo de cortiça em cada camião, é a solução mais eficiente. Chegadas à Piedade S.A., as pranchas de cortiça impróprias para a fabricação de rolhas devem ser imediatamente isoladas de todo o processo produtivo, ao contrário do que sucede. Como as pranchas de cortiça não rolhável têm de ser separadas por calibre final antes de serem guardadas no armazém concedido para elas, uma solução é dividir o sector de receção e seleção da cortiça (Figura 6- Página 26) em duas partes: uma exclusivamente para receber e separar as pranchas de cortiça rolhável e outra para receber e separar as pranchas de cortiça não rolhável.

A monitorização da humidade das rolhas ao longo de todo o processo produtivo é extremamente importante. Se as rolhas possuírem um teor de humidade superior a 8 %, a probabilidade de se formar TCA é maior do que quando as rolhas apresentam uma humidade de $6 \% \pm 2 \%$.

A colocação de sistemas de controlo de temperatura e de humidade na unidade fabril, poderá ser fundamental para reduzir os níveis de TCA presentes nas suas rolhas.

Em termos de trabalhos futuros, é citada uma sugestão de trabalho a desenvolver que se destina a complementar o presente trabalho:

- ❖ A realização de um trabalho similar a este na unidade industrial Sá e Sobrinho S.A., com o propósito de encontrar parâmetros críticos que possam estar a influenciar os níveis de TCA presentes nas pranchas de cortiça, e como tal, também estão a intervir na concentração de TCA presentes nas rolhas fabricadas pela Piedade S.A.

8. Bibliografia

- [1] C. Silva Pereira, P. Danesh, J. Figueiredo Marques, M. San Romão, “O gosto a rolha em vinhos-Estado actual dos conhecimentos,” *Ciência e Técnica Vitivinícola*, vol. 14, pp. 79–99, 1999.
- [2] J. Riboulet, L. Alves, N. Urreizti, “Quantificação dos cloroanísóis por micro extracção em fase sólida (SPME) e cromatografia gasosa (GC) com detecção por espectrometria de massa (MS) em macerados de lotes de rolhas de cortiça ou em vinho,” *Ciência e Técnica Vitivinícola*, vol. 17, pp. 61–71, 2002.
- [3] J. Coque, E. Pérez, M. Goswami, R. Martínez, S. García, M. Rodríguez, J. Martín, *Contaminação do vinho por Haloanísóis: Desenvolvimento de estratégias biotecnológicas para prevenir a contaminação de rolhas de cortiça por cloroanísóis*. INBIOTEC, APCOR, 2006.
- [4] M. Fortes, M. Rosa, H. Pereira, *A cortiça*, 2ª edição. Lisboa: IST Press, 2004.
- [5] S. Silva, M. Sabino, E. Fernandes, V. Correlo, L. Boesel, R. Reis, “Cork: properties, capabilities and applications,” *Int. Mater. Rev.*, vol. 50, pp. 345–365, 2005.
- [6] Associação Portuguesa da Cortiça (APCOR), *Cortiça em números*, 2016.
- [7] L. Gil, “Cortiça,” em *Ciência e Engenharia de Materiais de Construção*, M. Gonçalves, F. Margarido, Eds. IST Press, 2012, pp. 663–715.
- [8] Associação Portuguesa da Cortiça (APCOR), “Descortiçamento.” [Online]. Disponível:
<http://www.apcor.pt/cortica/processo-de-transformacao/descorticamento/>.
[Acedido: 03-Fev-2017].
- [9] H. Pereira, “Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber* L.,” *Wood Sci. Technol.*, vol. 22, pp. 211–218, 1988.
- [10] L. Gil, *Cortiça: da produção à aplicação*. Câmara Municipal do Seixal – Ecomuseu Municipal do Seixal., 2005.
- [11] L. Gil, “A química da cortiça : Ponto da situação,” *Bol. da Soc. Port. Quim.*, vol. 50, pp. 20–24, 1993.
- [12] M. Lopes, C. Neto, A. Barros, D. Rutledge, I. Delgadillo, A. Gil, “Quantitation of Aliphatic Suberin in *Quercus suber* L . Cork by FTIR Spectroscopy and Solid-State ¹³C-NMR Spectroscopy,” *Biopolymers*, vol. 57, pp. 344–351, 2000.

- [13] P. Kolattukudy, “Biopolyester Membranes of Plants : Cutin and Suberin,” *Science*, vol. 208, pp. 990–1000, 1980.
- [14] M. Bernards, “Demystifying suberin,” *Can. J. Bot.*, vol. 80, pp. 227–240, 2002.
- [15] A. Silvestre, C. Pascoal Neto, A. Gandini, “Cork and Suberins: Major Sources, Properties and Applications,” em *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, M. Naceur Belgacem, A. Gandini, Eds. Elsevier, 2008, pp. 305–320.
- [16] H. Pereira, *Cork : Biology, Production and Uses*, Elsevier, 2007. [Online]. Disponível:
https://books.google.pt/books?id=5uiycUoRmFkC&pg=PA2&lpg=PA2&dq=cork+properties&source=bl&ots=QWmcUpGnei&sig=ItFuY22AmdLzbzxU2LsUdqwFTrA&hl=ptPT&sa=X&ved=0ahUKEwjrlrWw9M_NAhWlQBoKHTFdAZE4ChDoAQggMAA#v=onepage&q&f=true. [Acedido: 23-Fev-2017].
- [17] Associação Portuguesa da Cortiça (APCOR), *Cortiça-Matéria-Prima*, 2015.
- [18] Associação Portuguesa da Cortiça (APCOR), *Manual técnico das rolhas*, 2015.
- [19] J. Coque, M. Rodríguez, R. Martínez, *Causas y orígenes de la contaminación del vino por haloanisoles*. INBIOTEC, 2005.
- [20] P. Vieira Neto, S. Rocha, A. Silvestre, “Simultaneous headspace solid phase microextraction analysis of off-flavour compounds from *Quercus suber* L. cork,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 87, pp. 632–640, 2007.
- [21] C. Pereira, L. Gil, “O Problema do Odor a Mofo nas Rolhas de Cortiça e Processos para a sua Redução/Eliminação,” *Silva Lusit.*, vol. 14, pp. 101–111, 2006.
- [22] S. Prak, Z. Gunata, J. Guiraud, S. Schorr-Galindo, “Fungal strains isolated from cork stoppers and the formation of 2,4,6-trichloroanisole involved in the cork taint of wine,” *Food Microbiol.*, vol. 24, pp. 271–280, 2007.
- [23] M. Álvarez-Rodríguez, L. López-Ocana, J. López-Coronado, E. Rodríguez., M. Martínez, G. Larriba, J. Coque, “Cork Taint of Wines: Role of the Filamentous Fungi Isolated from Cork in the Formation of 2,4,6- Trichloroanisole by O Methylation of 2,4,6-Trichlorophenol,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 68, pp. 5860–5869, 2002.

- [24] J. Coque, M. Alvarez-Rodríguez, G. Larriba, "Characterization of an inducible chlorophenol O-methyltransferase from *Trichoderma longibrachiatum* involved in the formation of chloroanisoles and determination of its role in cork taint of wines," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 69, pp. 5089–5095, 2003.
- [25] S. Patil, K. Banerjee, S. Utture, A. Fontana, J. Altamirano, D. Oulkar, S. Wagh, S. Dasgupta, S. Patil, M. Jadhav, B. Ugare, P. Adsule, M. Deshmukh, "Development and validation of a simple analytical method for the determination of 2,4,6-trichloroanisole in wine by GC – MS," *Food Chem.*, vol. 124, pp. 1734–1740, 2011.
- [26] R. Juanola, L. Guerrero, D. Subirà, V. Salvadó, S. Insa, J. Garcia Regueiro, E. Anticó, "Relationship between sensory and instrumental analysis of 2,4,6-trichloroanisole in wine and cork stoppers," *Anal. Chim. Acta*, vol. 513, pp. 291–297, 2004.
- [27] P. Chatonnet, S. Bonnet, S. Boutou, M-D. Labadie, "Identification and Responsibility of 2,4,6-Tribromoanisole in Musty, Corked Odors in Wine," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, pp. 1255–1262, 2004.
- [28] S. Insa, E. Antic, V. Ferreira, "Highly selective solid-phase extraction and large volume injection for the robust gas chromatography – mass spectrometric analysis of TCA and TBA in wines," *J. Chromatogr. A*, vol. 1089, pp. 235–242, 2005.
- [29] A. Peña-Neira, B. Simón, M. García-Vallejo, T. Hernández, E. Cadahía, J. Suarez, "Presence of cork-taint responsible compounds in wines and their cork stoppers," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 211, pp. 257–261, 2000.
- [30] H. Buser, C. Zanier, H. Tanner, "Identification of 2,4,6-Trichloroanisole as a Potent Compound Causing Cork Taint in Wine," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 30, pp. 359–362, 1982.
- [31] T. Tena, O. Ezquerro, "Determination of odour-causing volatile organic compounds in cork stoppers by multiple headspace solid-phase microextraction," *J. Chromatogr. A*, vol. 1068, pp. 201–208, 2005.
- [32] C. Butzke, T. Evans, S. Ebeler, "Detection of Cork Taint in Wine Using Automated Solid-Phase MicroExtraction in Combination with GC/MS-SIM," *ACS Symp. Ser.*, vol. 714, pp. 208–216, 1998.
- [33] M. Riu, M. Mestres, O. Busto, J. Guasch, "Determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines by headspace solid- phase microextraction and gas chromatography – electron-capture detection," *J. Chromatogr. A*, vol. 977, pp. 1–8, 2002.

- [34] P. Howland, A. Pollnitz, “The location of 2,4,6-trichloroanisole in a batch of contaminated wine corks,” *Aust. J. Grape Wine Res.*, vol. 3, pp. 1–5, 1997.
- [35] D. Özhan, R. Anli, N. Vural, M. Bayram, “Determination of Chloroanisoles and Chlorophenols in Cork and Wine by using HS-SPME and GC-ECD Detection,” *J. Inst. Brew.*, vol. 115, pp. 71–77, 2009.
- [36] M. Ponte, J. Lopes, V. Najdanovic-Visak, M. Manic, A. Mesquita, R. Silva, I. Allegro, “Method for direct treatment of cork stoppers, using supercritical fluids,” *Patente WO2010093273 A1*, 2010.
- [37] R. Simpson, M. Sefton, “Origin and fate of 2,4,6-trichloroanisole in cork bark and wine corks,” *Aust. J. Grape Wine Res.*, vol. 13, pp. 106–116, 2007.
- [38] A. Pollnitz, K. Pardon, D. Liacopoulos, G. Skouroumounis, M. Sefton, “The analysis of 2,4,6-trichloroanisole and other chloroanisoles in tainted wines and corks,” *Aust. J. Grape Wine Res.*, vol. 2, pp. 184–190, 1996.
- [39] Código Internacional das Práticas Rolheiras, C.E. Liège, versão 6.03.
- [40] C. Pereira, J. Marques, M. San Romao, “Cork taint in wine: Scientific knowledge and public perception — A critical review,” *Crit. Rev. Microbiol.*, vol. 26, pp. 147–162, 2000.
- [41] F. Whitfield, T. Nguyen, J. Last, “Effect of relative humidity and chlorophenol content on the fungal conversion of chlorophenols to chloroanisoles in fibreboard cartons containing dried fruit,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 54, pp. 595–604, 1991.
- [42] D. Haas, H. Galler, J. Habib, A. Melkes, R. Schlacher, W. Buzina, H. Friedl, E. Marth, F. Reinthaler, “Concentrations of viable airborne fungal spores and trichloroanisole in wine cellars,” *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 144, pp. 126–132, 2010.
- [43] Associação Portuguesa da Cortiça (APCOR), “combate ao TCA.” [Online]. Disponível: <http://www.apcor.pt/combate-ao-tca-tricloroanisole/>. [Acedido: 27-Fev-2017]
- [44] T. Evans, C. Butzke, S. Ebele, “Analysis of 2,4,6-trichloroanisole in wines using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry,” *J. Chromatogr. A*, vol. 786, pp. 293–298, 1997.
- [45] D. Barker, D. Capone, A. Pollnitz, H. Mclean, I. Francis, H. Oakey, M. Sefton, “Absorption of 2,4,6-trichloroanisole by wine corks via the vapour phase in an enclosed environment,” *Aust. J. Grape Wine Res.*, vol. 7, pp. 40–46, 2001.

- [46] P. Vlachos, E. Stathatos, G. Lyberatos, P. Lianos, “Gas-phase photocatalytic degradation of 2,4,6-trichloroanisole in the presence of a nanocrystalline Titania film. Applications to the treatment of cork stoppers,” *Catal. Commun.*, vol. 9, pp. 1987–1990, 2008.
- [47] J. N. Miller, J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5^a edição. Pearson, 2005.

9. Anexos

Anexo I- Teor de humidade das rolhas utilizadas nas macerações

Tabela 7-Número de rolhas com um teor de humidade inferior ($[0,4[$), igual ($[4,8]$) e superior ($]8, +\infty[$) aos recomendados, o menor (LI) e o maior (LS) teor de humidade obtido e o teor médio de humidade das rolhas, de cada condição nas semanas 0, 1 e 2.

Condição	Semana 0						Semana 1						Semana 2					
	LI (%)	LS (%)	Número de rolhas			média (%)	LI (%)	LS (%)	Número de rolhas			média (%)	LI (%)	LS (%)	Número de rolhas			média (%)
			$[0,4[$	$[4,8]$	$]8, +\infty[$				$[0,4[$	$[4,8]$	$]8, +\infty[$				$[0,4[$	$[4,8]$	$]8, +\infty[$	
saco aberto e rolhas secas na estufa	4,0	7,0	0	60	0	5,5	4,8	6,5	0	60	0	5,5	5,2	7,4	0	60	0	5,9
Saco fechado	4,0	7,0	0	60	0	5,5	5,0	6,6	0	60	0	5,9	5,0	7,8	0	60	0	5,8
Cortiça não rolhável	4,0	7,0	0	60	0	5,5	5,2	8,0	0	60	0	6,8	5,3	8,0	0	60	0	6,5
rolhas secas à temperatura ambiente	10,0	13,0	0	0	60	11,1	6,0	9,0	0	58	2	7,2	5,6	8,1	0	59	1	6,6
Temperatura inferior	4,0	7,0	0	60	0	5,5	3,5	5,1	7	53	0	4,3	3,3	4,7	11	49	0	4,1

Tabela 8-Número de rolhas com um teor de humidade inferior ($[0,4[$), igual ($[4,8]$) e superior ($]8, +\infty[$) aos recomendados, o menor (LI) e o maior (LS) teor de humidade obtido e o teor médio de humidade das rolhas, de cada condição nas semanas 3,4,5 e 6.

Condição	Semana 3						Semana 4						Semana 5					
	LI (%)	LS (%)	Número de rolhas			média (%)	LI (%)	LS (%)	Número de rolhas			média (%)	LI (%)	LS (%)	Número de rolhas			média (%)
			$[0,4[$	$[4,8]$	$]8, +\infty[$				$[0,4[$	$[4,8]$	$]8, +\infty[$				$[0,4[$	$[4,8]$	$]8, +\infty[$	
saco aberto e rolhas secas na estufa	4,7	6,4	0	60	0	5,5	5,0	7,3	0	60	0	5,9	4,5	5,8	0	60	0	5,0
Saco fechado	4,8	6,1	0	60	0	5,2	5,1	6,9	0	60	0	5,8	4,6	6,2	0	60	0	5,1
Cortiça não rolhável	4,8	8,0	0	60	0	6,4	6,1	8,2	0	57	3	7,1	5,6	7,7	0	60	0	6,4
rolhas secas à temperatura ambiente	5,6	8,1	0	59	1	6,6	4,9	6,4	0	60	0	5,7	5,1	7,5	0	60	0	5,9
Temperatura inferior	3,2	4,4	41	19	0	3,8	2,1	3,7	60	0	0	3,1	2,8	3,8	60	0	0	3,4

Condição	Semana 6					
	LI (%)	LS (%)	Número de rolhas			média (%)
			$[0,4[$	$[4,8]$	$]8, +\infty[$	
saco aberto e rolhas secas na estufa	4,9	6,5	0	60	0	5,5
Saco fechado	5,0	6,9	0	60	0	5,6
Cortiça não rolhável	5,9	8,3	0	55	5	7,0
rolhas secas à temperatura ambiente	4,5	6,3	0	60	0	5,4
Temperatura inferior	0,8	3,3	60	0	0	2,5

Anexo II- Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas para os diferentes parâmetros

❖ Condições de armazenamento das rolhas

Tabela 9-Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas do saco aberto ao longo das 6 semanas.

Condição	[TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)						
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
Saco aberto	0,7	0,7	0,0	0,8	0,8	0,9	1,1
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	1,0
	0,8	0,9	1,1	0,0	1,0	0,7	0,0
	0,9	0,7	0,9	0,8	0,7	0,0	0,0
	0,0	0,0	1,3	1,3	0,6	0,9	1,5
	0,0	0,0	0,8	1,1	1,2	0,0	0,7
	0,7	0,8	1,0	0,8	0,9	1,5	0,9
	0,0	0,7	1,2	0,0	0,6	0,8	1,3
	0,0	0,0	0,9	0,0	1,0	0,0	0,6
	0,8	1,6	1,4	0,7	0,8	1,1	1,3
	0,0	1,1	0,0	1,7	0,0	0,9	0,9
	0,0	0,9	0,9	0,5	0,7	0,7	1,4
	1,4	1,0	0,7	0,0	0,9	1,3	1,0
	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8
	0,5	0,0	0,5	0,9	0,0	0,8	0,9

Tabela 10-Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas do saco fechado ao longo das 6 semanas.

Condição	[TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)						
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
Saco fechado	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,9
	0,0	0,6	0,7	0,7	0,7	0,0	0,0
	0,8	0,8	1,2	0,6	0,0	0,8	0,9
	0,9	0,0	0,7	1,1	0,6	1,2	1,0
	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,7	0,8
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0
	0,7	0,0	0,8	0,9	1,1	0,0	0,9
	0,0	1,2	0,9	0,0	0,9	0,0	1,2
	0,0	0,8	1,1	0,0	0,8	0,9	0,0
	0,8	1,1	0,7	1,3	0,0	1,0	0,0
	0,0	0,7	0,0	0,7	0,7	0,7	1,0
	0,0	0,0	0,8	0,9	1,8	0,0	1,2
	1,4	0,0	0,9	0,0	0,6	1,2	0,8
	0,6	0,8	0,0	0,8	0,0	0,9	0,0
	0,5	0,9	0,9	1,0	0,9	0,7	1,1

❖ **Cortiça não rolhável**

Tabela 11-Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas do saco em contacto com pranchas de cortiça não rolhável ao longo das 6 semanas.

Parâmetro	[TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)						
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
Cortiça não rolhável	0,7	0,7	0,0	1,2	1,3	1,5	1,9
	0,0	0,0	0,0	0,9	0,9	1,2	1,3
	0,8	0,0	0,6	0,6	0,5	0,9	0,8
	0,9	1,1	1,1	0,8	0,7	0,7	0,7
	0,0	0,8	1,4	1,0	0,6	2,1	1,7
	0,0	1,0	1,2	0,5	1,9	1,4	2,0
	0,7	1,9	0,9	0,9	1,3	0,7	1,2
	0,0	0,7	2,4	0,7	0,8	1,0	1,8
	0,0	0,9	0,7	0,5	1,1	0,8	1,1
	0,8	0,0	0,0	1,4	0,8	0,9	0,9
	0,0	0,0	1,9	0,7	1,9	1,2	1,9
	0,0	0,7	1,1	1,4	0,7	1,0	1,5
	1,4	0,6	0,7	1,1	0,9	0,8	0,9
	0,6	1,2	0,6	0,9	1,1	1,5	1,4
	0,5	0,9	0,0	0,7	0,7	2,2	1,2

❖ **Estufa e humidade**

Tabela 12-Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas secas na estufa ao longo das 6 semanas.

Condição	[TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)						
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
Rolhas secas na estufa	0,7	0,7	0,0	0,8	0,8	0,9	1,1
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	1,0
	0,8	0,9	1,1	0,0	1,0	0,7	0,0
	0,9	0,7	0,9	0,8	0,7	0,0	0,0
	0,0	0,0	1,3	1,3	0,6	0,9	1,5
	0,0	0,0	0,8	1,1	1,2	0,0	0,7
	0,7	0,8	1,0	0,8	0,9	1,5	0,9
	0,0	0,7	1,2	0,0	0,6	0,8	1,3
	0,0	0,0	0,9	0,0	1,0	0,0	0,6
	0,8	1,6	1,4	0,7	0,8	1,1	1,3
	0,0	1,1	0,0	1,7	0,0	0,9	0,9
	0,0	0,9	0,9	0,5	0,7	0,7	1,4
	1,4	1,0	0,7	0,0	0,9	1,3	1,0
	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8
	0,5	0,0	0,5	0,9	0,0	0,8	0,9

Tabela 13-Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas secas à temperatura ambiente ao longo das 6 semanas.

Condição	[TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)						
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
Rolhas secas à temperatura ambiente	0,8	0,9	0,9	0,8	1,3	1,2	1,4
	0,0	0,7	0,8	1,0	1,0	1,6	1,1
	0,9	0,0	1,3	0,5	0,9	1,0	0,9
	0,0	0,0	1,0	1,5	1,6	0,7	2,2
	0,6	0,8	0,7	1,0	1,2	0,9	1,7
	0,0	1,3	1,5	0,9	0,8	1,3	1,0
	0,7	0,9	0,9	1,5	1,0	1,5	0,9
	0,0	0,7	1,4	0,5	1,5	1,0	1,3
	0,0	0,0	1,1	1,4	1,3	1,2	2,0
	1,1	0,0	0,7	0,8	0,7	0,8	1,2
	0,9	0,9	0,6	0,9	1,0	0,5	1,8
	0,7	0,6	1,0	0,7	1,2	1,9	1,4
	0,0	0,8	0,6	1,0	0,8	1,0	1,0
	0,7	1,8	0,9	0,8	1,0	1,3	0,8
	0,0	1,4	1,0	0,6	1,4	2,2	0,6

❖ Temperatura

Tabela 14-Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas expostas a uma temperatura inferior à recomendada ao longo das 6 semanas.

Condição	[TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)						
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
Temperatura inferior	0,7	0,0	0,8	0,8	0,7	0,0	0,0
	0,0	0,7	0,6	1,0	1,0	0,7	0,7
	0,8	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	1,0
	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,9
	0,0	0,9	0,9	0,7	0,9	1,0	1,0
	0,0	0,8	0,0	0,0	0,7	0,7	0,7
	0,7	0,0	0,0	0,9	0,8	1,0	1,5
	0,0	0,7	0,8	1,0	0,0	1,2	1,2
	0,0	1,0	0,7	0,8	1,1	0,9	0,9
	0,8	0,9	0,0	1,1	0,7	0,8	0,8
	0,0	0,0	0,0	0,7	1,0	1,0	1,0
	0,0	0,8	0,8	0,6	1,3	0,0	0,9
	1,4	0,9	1,0	1,0	1,1	0,0	0,0
	0,6	0,0	0,9	0,9	0,9	0,7	0,7
	0,5	0,0	0,6	1,0	0,0	1,0	1,0

Tabela 15-Resultados da concentração de TCA extraído das rolhas expostas a uma temperatura superior à recomendada ao longo das 6 semanas.

Condição	[TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)						
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
Temperatura superior	0,7	0,0	1,1	0,9	1,9	1,1	1,2
	0,0	0,7	0,9	1,3	1,1	1,3	0,8
	0,8	0,9	0,7	0,8	0,8	0,9	1,1
	0,9	0,0	0,0	0,5	0,0	0,8	0,8
	0,0	0,6	0,0	0,0	0,8	0,0	1,4
	0,0	0,0	1,3	1,5	1,3	1,9	1,0
	0,7	0,9	0,7	0,8	1,0	1,2	0,9
	0,0	1,0	1,1	1,0	1,6	0,7	1,0
	0,0	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	0,0
	0,8	0,0	0,0	0,9	0,6	0,0	1,2
	0,0	0,0	1,5	1,6	0,9	1,1	1,6
	0,0	0,8	0,7	1,2	1,0	0,6	1,4
	1,4	0,9	1,2	1,1	0,0	1,4	0,9
	0,6	1,1	0,6	0,0	1,7	1,0	1,1
	0,5	0,6	1,0	0,7	1,0	0,9	1,0

Anexo III- Concentração de TCA extraído de diferentes ensaios nas quatro estações do ano em 2016

Tabela 16- Concentração de TCA extraído de diferentes ensaios de cortiça de raça boa nas quatro estações do ano em 2016.

Raça boa – [TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)																											
Primavera							Verão							Outono							Inverno						
0,7	0,0	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,8	0,6	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	1,2	1,8	0,0	2,0	0,0	0,0	0,6
0,0	0,0	0,0	0,8	5,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,5	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	1,6	1,3	0,0	1,5
0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,6	0,0	0,8	0,0	2,8	1,9	0,6	1,0	0,5	0,0	1,5	0,0	0,8	1,3	0,9	4,7	0,0
0,0	0,0	0,9	0,0	1,2	1,9	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,6	1,6	1,2	0,0	0,6	2,5	0,7	0,0	0,0	0,0	0,9	1,6	0,0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	1,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,6	1,1	0,9	0,9	0,9	10
0,0	2,1	0,0	0,0	0,7	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	0,0	2,0	1,0	0,9	1,6	0,8	3,3	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	1,8
0,0	0,0	1,2	3,9	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,8	0,8	0,0	0,0	1,3	1,0	1,2	0,0	0,7	1,6
0,0	3,5	0,0	0,0	0,8	0,6	0,0	0,0	0,9	1,4	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,8	0,0	0,7	1,2	0,0	2,8	0,8	1,6
0,7	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,6	2,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	2,1	4,2	1,2	1,3
0,7	0,0	0,0	0,0	1,9	1,2	0,8	0,9	0,7	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	0,0	0,9	0,8	0,6	0,8	0,0	0,7	0,8	1,2	1,2	0,8
0,8	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	1,2	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	1,8	0,9	1,6	1,0	0,9
0,9	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,2	0,7	1,1	0,7	2,1	2,1	1,2	4,7	1,1
0,0	0,0	0,0	1,0	1,2	0,0	2,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,6	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	1,0	0,7	0,0	0,7	0,0	1,1	1,6	0,0	0,0
0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,9	0,0	1,2	0,0	1,8	0,0	0,7	0,9	1,0	0,0	5,8
0,7	0,0	0,0	1,4	0,0	0,0	0,9	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	2,6	1,4	0,0	1,0	0,7	0,0	0,7	0,7	2,4	0,7	0,0
0,7	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4,2	0,0	0,0	0,0	0,0	4,1	0,0	0,0	2,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,9	2,3	0,6	0,8	1,0	0,6	4,9	0,0	2,5	1,2	
1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	1,7	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	2,4	1,2	0,0	1,0	0,8	0,6	0,8	0,0	0,6	0,8	1,2	
1,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	1,0	0,8	2,6	0,0	0,8	0,0	0,0	
0,0	0,0	1,0	0,0	0,9	2,2	0,0	0,6	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	10,	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,7	0,0	5,0	1,4		
0,0	0,0	0,9	0,0	0,8	2,0	0,0	0,0	0,6	0,9	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	1,4	2,6	1,0	0,8	0,9	0,0	0,5	0,0	1,2	2,7		

Tabela 17- Concentração de TCA extraído de diferentes ensaios de cortiça de raça média nas quatro estações do ano em 2016.

Raça média – [TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)																										
Primavera						Verão						Outono						Inverno								
0,9	0,0	0,8	1,2	2,1	1,1	0,0	0,0	0,9	0,0	7,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,7	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	15	0,8	0,0	1,9	0,7
0,0	0,8	1,5	5,0	0,8	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	3,2	5,8	0,0	0,0	1,7
0,0	0,8	0,0	0,9	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	2,1	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,7	1,6	0,0	0,0	0,7	7,0	0,0	0,0	2,0
0,8	0,0	3,0	0,0	0,7	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,7	1,3	0,0	0,6	0,0	0,8	0,0	0,0	8,5	1,4	1,7	0,0
1,2	0,8	0,0	0,7	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	1,6	0,9	0,8	3,1	1,3	0,7	0,0	1,3	2,3	3,1	0,8
0,0	0,0	0,8	0,0	1,5	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	1,1	0,0	1,1	0,7	0,9	1,2	0,7	9,3	1,2	1,2	3,7	1,7	0,0
0,0	1,0	0,8	0,9	0,0	1,3	2,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,9	0,9	0,0	1,1	2,6	0,0	0,8	0,9	0,0	6,5	4,2	2,2
1,0	0,6	0,0	0,7	1,4	1,9		0,9	1,1	0,0	0,0	4,0	1,0	1,1	0,0	2,8	2,4	0,0	1,6	2,2	0,0	0,8	3,1	1,3	0,7	0,0	1,1
1,1	1,3	0,0	0,0	1,0	0,0		0,0	0,6	0,8	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	1,4	2,0	0,6	0,0	2,8	0,0	6,8	0,9	0,0	1,2	0,6	1,2
1,4	0,0	6,7	0,0	1,0	3,7		1,0	1,7	0,7	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,7	0,0	0,6	1,0	0,0	0,0	0,6	1,4	1,8	1,6	0,0	1,7
0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	2,8		0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	1,6		0,0	0,0	0,9	1,3	1,0	0,0	0,0	0,8	1,2	1,1	1,8	1,3	1,4
1,4	1,4	0,7	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	1,1	0,6	0,0	0,6		1,0	1,3	0,7	1,3	0,0	1,0	13	0,0	1,1	0,0	1,2	0,0	1,8
0,0	1,5	0,0	0,0	0,9	1,2		0,8	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	2,3	1,0	0,7	0,0	2,1	0,0	1,1	0,0	1,6
0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0		1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	2,8	0,0	0,0	0,8	0,0	15	2,2	0,0	0,7	0,0	1,6
4,7	0,0	0,7	0,0	0,8	0,9		0,0	1,9	0,8	1,0	0,0	0,0		0,0	1,3	0,0	0,0	0,7	0,6	0,0	1,4	8,0	0,0	1,6	1,1	2,1
2,5	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,6	0,9	0,0	0,8	0,0		0,8	6,9	0,7	0,8	15	1,0	0,0	2,7	1,0	1,0	1,2	1,1	2,4
2,2	0,0	0,0	0,7	0,7	0,0		0,0	0,8	0,0	2,2	0,8	0,0		0,0	0,0	0,0	0,8	0,9	0,0	0,0	6,2	1,8	3,2	6,8	2,8	2,0
0,8	0,9	0,0	0,0	4,3	0,0		0,0	0,9	0,0	1,0	0,0	0,9		0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	4,2	0,6	0,0	0,0	1,1	0,0	0,9
0,7	0,0	0,6	1,0	6,1	0,8		0,0	5,0	0,0	0,6	0,0	0,0		3,7	0,9	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	2,1	0,0	0,5	1,6	0,0	2,5
0,6	0,0	0,8	0,0	0,0	2,2		0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	2,4		5,8	1,8	1,8	0,0	0,9	0,6	0,8	0,0	0,9	0,6	3,5	1,2	
1,0	1,2	0,7	1,0	4,7	0,7		0,0	0,0	0,0	3,1	0,0	0,9		0,8	0,0	0,0	0,7	1,0	0,0	0,0	1,7	0,0	0,0	9,6	0,8	

Tabela 18- Concentração de TCA extraído de diferentes ensaios de cortiça de raça fraca nas quatro estações do ano em 2016.

Raça fraca – [TCA] _{extraído} (ng.L ⁻¹)																								
Primavera						Verão						Outono						Inverno						
1,0	0,0	1,0	0,0	2,4	0,9	9,7	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,7	0,0	0,5	0,0	0,6	1,7	0,6	1,1	1,2	1,3	2,7	0,0	1,5
0,0	0,0	0,0	10	0,8	0,9		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,8	0,0	0,0	0,9	2,8	1,1	0,0	1,6	9,0	0,8	1,4	1,6
1,1	0,8	2,0	0,6	0,0	0,8		0,3	0,7	0,0	2,1	0,0	0,8	0,0	0,7	2,9	1,0	0,8	0,7	1,0	1,8	0,8	4,9	0,0	0,0
0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	1,8		0,0	2,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,8	1,4	1,4	5,6	0,0	0,0	0,0	5,8	0,0	1,1	5,1	0,0
0,0	3,6	0,0	0,7	0,0	1,2		0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,9	0,6	0,0	25	0,0	2,7	1,0	0,0	0,7	0,9	1,7	1,1	0,0
0,0	0,9	1,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	2,7	0,0	0,0	0,9	0,0	1,2	1,0	0,0	0,7	2,9	3,3	0,0	1,9
0,0	1,9	0,9	0,0	0,0	0,0		2,2	1,8	0,8	0,0	5,1	0,0	2,0	5,7	1,9	0,0	0,0	1,7	4,1	2,8	1,0	0,9	1,1	1,6
0,0	1,0	0,0	0,9	11	0,9		1,0	1,1	0,7	0,0	0,5	0,0	0,0	0,7	2,0	0,6	1,0	0,0	2,1	1,4		1,0	0,8	1,5
0,0	0,0	3,5	0,7	2,0	0,7		0,7	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	1,3	1,4	0,6	0,8	2,3	2,5		0,7	1,6	2,5
1,3	0,0	0,0	2,9	0,0	0,9		0,8	0,0	0,5	0,6	0,9	0,0	0,0	0,5	0,8	0,0	1,0	2,2	4,2	1,4		1,0	0,0	2,6
0,9	0,0	3,5	0,0	0,0	0,6		0,7	0,0	0,0	0,0	1,4	0,0	1,3	0,7	0,6	0,0	1,5	0,0	1,3	3,1		0,9	0,0	1,8
0,0	1,8	0,0	0,0	0,9	0,7		0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,9	3,4	1,6	0,0	0,0	0,7	0,0	2,3		0,9	0,0	1,7
1,1	0,0	0,0	2,2	0,0	0,0		0,9	0,8	0,0	3,5	2,3	0,0	0,0	11	0,9	0,8	1,9	0,0	0,0	2,0		0,8	1,2	1,6
1,3	5,2	0,9	0,0	0,8	3,6		0,0	1,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	0,0	1,1	0,8	0,0	8,9		0,8	1,0	2,2
2,3	0,0	1,0	1,0	0,9	2,9		1,6	0,0	0,0	1,1	0,6	0,0	0,9	0,0	0,0	1,8	0,0	1,1	1,5	1,5		1,2	0,7	1,1
0,0	0,0	0,0	3,1	1,0	0,0		0,0	1,8	1,5	1,3	0,0	0,9	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,7	0,9	0,0		14	0,0	0,8
1,0	3,2	5,2	0,0	1,2	2,3		0,0	0,0	9,8	0,0	0,0	2,4	0,0	0,0	2,5	1,0	0,0	0,0	2,5	0,8		0,8	1,0	2,0
0,0	1,0	0,6	26	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,7	0,0	1,0	4,2	0,8	1,1		8,6	0,0	2,4
0,9	0,0	0,8	0,0	3,4	0,9		2,0	0,0	0,9	0,0	2,6	8,3	1,4	3,7	0,0	0,6	0,8	2,2	1,2	0,8		1,1	1,8	1,6
2,5	1,5	0,0	1,6	1,2	1,9		0,7	0,0	0,0	1,0	2,6	0,0	0,0	0,6	0,0	0,7	0,0	0,0	1,1	0,7		2,3	0,9	1,8
0,8	1,1	3,4	0,9	1,1	0,7		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,7	0,9	0,0	1,0	0,0	2,9	1,9	1,2		0,0	2,6	3,1

Anexo IV- Teor de humidade de rolhas nas quatro estações do ano em 2016

Tabela 19-Teor de humidade das rolhas (%) na primavera de 2016.

Primavera																					
5,5	6,1	5,0	5,0	5,0	10,0	9,0	5,0	7,1	7,0	4,0	7,0	7,0	7,0	2,0	5,0	5,0	3,0	4,0	5,0	7,0	6,0
10,0	5,0	3,0	4,0	7,0	4,0	7,0	9,0	4,2	4,0	4,0	6,0	4,0	4,0	7,1	5,0	4,0	5,0	8,0	5,0	4,0	7,0
8,0	6,0	4,0	5,0	5,0	5,0	2,0	5,0	5,0	10,0	9,0	5,0	6,0	10,0	5,0	2,0	4,0	5,0	6,0	8,0	8,5	4,0
5,0	5,0	5,0	4,0	10,0	2,0	5,0	5,0	5,0	7,1	5,9	4,0	4,0	4,0	9,0	4,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	4,0
5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	2,0	4,0	5,0	4,5	11,0	8,0	4,0	2,0	6,0	5,0	4,0	4,0	6,0	4,0	8,0	5,0	4,0
5,0	5,0	6,0	6,0	10,0	5,0	11,0	6,5	4,0	7,0	5,0	10,0	5,0	4,0	2,0	4,0	10,0	10,0	7,0	5,0	5,0	8,0
5,0	5,0	7,0	5,0	2,0	5,0	5,0	4,0	5,0	8,0	5,0	4,0	5,0	6,0	4,0	7,0	5,0	5,0	4,0	9,0	4,0	2,0
3,0	4,0	5,0	5,0	4,0	5,0	10,2	5,0	5,0	7,0	4,0	4,0	7,1	11,0	4,0	7,5	10,0	5,0	2,0	4,5	5,0	7,0
4,0	5,0	8,0	5,0	4,0	6,5	4,0	10,0	5,0	8,0	8,0	8,0	7,0	4,0	4,0	5,0	4,0	4,0	4,0	11,0	6,0	7,0
5,0	4,0	10,0	2,0	5,0	5,0	5,0	10,5	4,0	5,0	2,0	7,0	4,0	4,0	7,0	2,0	7,0	8,5	4,0	2,0	7,0	5,0
5,0	5,0	11,0	5,0	5,0	5,0	4,0	10,5	5,0	3,0	2,0	5,0	9,0	7,0	4,0	4,0	5,0	7,1	9,0	5,5	5,0	4,0
6,0	6,0	11,0	4,0	2,0	5,0	4,0	5,0	4,0	8,0	5,0	5,0	5,0	5,0	7,5	5,0	5,0	10,5	5,0	6,1	5,0	4,5
7,0	5,0	5,0	4,0	4,0	6,0	10,0	6,0	9,0	8,0	5,0	9,0	4,0	4,0	5,0	5,0	5,0	8,0	5,0	4,0	9,5	5,0
5,0	5,0	5,0	5,0	2,0	6,9	5,0	5,0	4,0	7,0	6,0	11,0	4,0	8,0	9,0	2,0	6,0	4,0	5,0	5,0	4,0	9,0
8,0	5,0	7,0	4,0	5,0	6,0	4,0	7,0	11,0	7,0	2,0	4,0	2,0	5,0	7,0	6,0	2,0	8,0	5,0	8,0	7,0	4,0
10,0	2,0	5,0	7,0	4,0	10,0	7,5	5,0	2,0	8,0	7,0	5,0	5,0	4,0	5,0	6,0	9,0	5,0	4,0	2,0	5,0	4,0
10,5	5,0	6,0	6,0	4,0	8,0	5,0	4,0	2,0	4,0	5,0	2,0	7,0	4,0	5,0	4,5	2,0	5,0	2,0	8,0	5,0	4,0
11,0	4,0	8,5	5,0	8,0	5,0	5,0	8,0	5,0	8,0	5,0	7,0	11,0	5,0	3,0	6,9	5,0	6,0	6,0	4,0	5,0	10,0
5,0	4,0	3,0	5,0	5,0	9,0	5,5	7,0	4,0	7,0	5,0	9,0	6,0	5,0	4,2	5,0	11,0	5,0	5,0	5,0	4,0	2,0
5,0	5,0	8,5	5,0	5,0	9,0	4,0	4,0	6,5	10,0	2,0	10,5	6,0	4,0	5,0	5,0	2,0	5,0	10,0	8,0	4,0	5,0
7,0	4,0	2,0	4,5	9,0	10,0	4,0	8,0	4,0	6,0	2,0	5,0	10,0	7,2	5,0	5,0	8,0	3,0	5,0	5,0	7,0	5,0
5,0	7,0	5,0	7,5	11,0	5,0	4,0	9,0	5,0	6,0	5,0	7,5	5,0	5,0	5,0	4,0	5,0	7,0	5,0	10,0	6,0	5,0
6,0	6,0	4,0	7,0	5,0	7,0	4,0	5,0	4,0	5,0	4,0	2,0	10,0	5,0	4,0	10,0	6,0	5,0	4,0	10,0	3,0	3,0
8,5	5,0	3,0	9,0	9,0	4,0	9,0	8,0	10,0	5,0	4,0	5,0	9,0	8,0	4,0	4,0	5,0					

Tabela 20-Teor de humidade das rolhas (%) no verão de 2016.

Verão															
4,0	8,0	4,0	4,0	9,0	2,0	5,0	4,0	4,0	6,5	4,0	4,0	4,0	5,0	4,0	4,0
4,0	9,0	5,0	4,0	4,0	6,5	8,0	4,0	4,0	5,0	5,0	3,0	5,0	4,0	4,0	4,0
7,0	4,0	4,0	5,0	2,0	9,0	4,0	5,0	5,0	2,0	4,0	4,0	8,5	7,0	5,0	2,0
6,0	7,0	4,0	6,0	4,0	4,0	4,0	5,0	6,0	4,0	6,0	4,0	2,0	4,0	5,0	5,0
5,0	4,0	7,5	6,0	5,5	4,0	6,5	7,0	6,0	9,0	8,0	9,0	4,0	4,0	5,0	4,0
5,0	5,0	4,0	5,0	9,0	2,0	4,0	4,0	6,0	2,0	4,0	2,0	5,0	4,0	5,0	4,0
4,0	4,0	8,5	2,0	9,0	7,0	6,0	5,0	4,0	4,0	4,0	5,0	6,0	4,0	4,0	6,0
5,0	8,5	5,0	8,0	9,0	4,0	4,0	2,0	6,0	4,0	5,0	4,0	5,0	4,0	2,0	9,0
4,0	5,0	4,0	9,0	7,0	5,0	4,0	3,0	5,0	4,0	8,5	6,0	5,0	4,0	2,0	4,0
4,0	9,0	4,0	4,0	4,0	7,0	6,5	4,0	6,0	5,0	2,0	5,0	5,0	6,0	5,0	6,0
7,5	5,0	8,5	4,0	5,0	4,0	4,0	8,5	6,2	7,0	4,0	6,0	5,0	4,0	7,0	5,8
4,0	9,0	8,0	2,0	4,0	4,0	7,0	2,0	4,0	5,0	8,0	4,0	5,0	4,0	6,0	5,0
8,5	4,0	5,0	4,0	5,0	5,0	4,0	4,0	8,0	6,1	5,0	5,0	4,0	8,0	5,5	5,0
5,0	6,5	7,0	5,0	4,0	2,0	8,0	4,0	7,0	4,0	4,0	4,0	2,0	8,5	4,0	5,0
4,0	8,0	7,0	5,0	4,0	4,0	4,0	2,0	9,0	7,0	3,0	9,0	4,0	4,0	5,0	8,0
4,0	4,0	4,0	5,0	6,5	4,0	5,0	4,0	2,0	5,0	4,0	6,7	5,0	9,0	5,0	4,0
6,0	8,0	5,0	4,0	4,0	6,0	7,0	9,0	2,0	4,0	8,0	4,0	9,0	6,1	4,0	4,0
9,0	5,0	6,0	5,0	5,0	2,0	5,0	8,5	2,0	4,0	3,0	4,0	6,0	9,0	2,0	2,0
2,0	4,0	5,0	5,0	4,0	4,0	4,0	5,0	4,0	4,0	4,0	2,0	5,0	4,0	6,0	4,0
8,0	4,0	5,0	2,0	5,0	7,0	5,0	5,0	4,0	4,0	5,0	5,0	4,0	6,0	4,0	2,0
5,0	7,0	6,0	5,0	5,0	2,0	9,0	5,0	4,0	2,0	2,0	4,0	5,0	8,0	5,0	2,0
4,0	6,0	6,5	5,0	6,0	5,0	4,0	5,0	5,0	5,0	4,0	6,0	4,0	2,0	5,0	4,0
9,0	5,0	4,0	7,5	7,0	7,0	2,0	4,0	4,0	4,0	9,0	6,1	6,0	6,0	2,0	2,0
7,5	5,0	9,0	2,0	5,0	4,0	2,0	4,0	5,0	6,0						

Tabela 21- Teor de humidade das rolhas (%) no outono de 2016.

Outono																					
4,0	5,0	12,0	5,0	8,0	5,0	5,0	2,8	6,0	4,0	6,0	10,0	7,0	8,0	11,0	7,0	5,0	4,0	6,0	5,9	4,0	10,0
5,0	4,0	8,0	6,0	9,0	5,0	9,0	8,8	4,0	5,0	4,0	11,0	2,0	9,5	7,5	11,0	5,0	5,0	11,0	11,0	5,0	6,0
5,0	8,0	3,8	11,0	4,0	4,0	7,0	2,6	4,0	10,0	5,0	8,0	2,0	11,0	6,5	4,0	10,0	11,0	11,0	4,0	4,0	5,0
5,0	8,0	4,8	10,0	5,0	4,0	8,0	5,0	6,0	10,0	5,0	10,0	4,0	11,0	4,8	7,0	4,0	7,0	6,0	5,0	5,0	11,0
2,0	9,0	3,2	5,0	11,0	5,0	10,0	5,0	4,0	13,0	5,0	7,0	4,0	5,0	3,7	6,0	5,0	4,0	9,0	10,0	4,0	9,0
5,0	8,0	11,0	4,0	10,0	9,0	9,0	12,0	9,0	6,6	4,0	6,0	8,0	5,0	2,7	5,0	9,0	6,0	8,0	4,0	7,0	11,0
4,0	9,0	4,2	10,0	10,0	5,0	10,0	5,0	7,0	3,9	6,0	11,0	4,0	9,0	5,0	5,0	6,0	6,0	4,0	6,0	5,0	5,9
4,0	11,0	5,3	9,0	8,0	4,0	8,0	2,0	8,0	11,0	4,0	5,0	5,0	9,0	5,0	4,0	5,0	7,0	5,0	2,0	7,0	2,3
4,0	8,0	11,0	4,0	10,0	4,0	12,0	8,0	10,0	3,2	4,0	7,0	9,0	6,0	5,0	7,0	4,6	5,0	5,0	4,0	11,0	3,0
5,0	9,0	5,0	5,0	3,0	4,0	10,0	4,0	7,0	11,0	12,0	5,0	7,0	8,0	5,0	5,0	8,7	5,0	9,0	4,0	8,0	11,0
5,0	12,0	7,0	5,0	6,0	9,0	11,0	6,0	9,0	3,5	4,0	5,0	8,0	10,0	2,0	10,0	2,2	4,0	6,0	5,0	4,0	7,2
11,0	5,0	5,0	9,0	4,9	8,0	5,0	4,0	5,0	7,3	9,0	10,0	4,0	8,0	2,0	9,0	3,5	4,0	5,0	4,0	7,0	4,4
4,0	11,0	4,0	5,0	2,3	5,0	6,0	4,0	9,0	4,0	5,0	6,0	5,0	11,0	4,0	7,0	2,0	9,0	6,0	4,5	5,0	11,0
5,0	8,0	4,0	7,0	6,0	4,0	4,0	5,0	9,0	5,0	4,0	6,0	5,0	6,0	5,9	10,0	5,4	8,0	4,0	9,0	11,0	6,0
4,0	5,0	8,0	6,0	11,0	4,0	11,0	9,0	7,0	4,0	10,0	4,4	6,0	4,0	4,0	6,0	11,0	8,0	11,0	6,0	5,0	7,0
5,0	4,0	4,0	9,0	11,0	8,0	4,0	7,0	8,0	5,0	7,0	9,8	4,0	7,0	4,0	8,0	5,0	6,0	11,0	4,0	9,0	5,0
6,0	5,0	9,0	5,0	6,6	6,0	7,0	5,0	10,0	2,0	7,0	3,5	5,0	4,0	5,0	9,0	5,0	5,0	11,0	5,0	9,0	3,3
10,0	7,0	3,0	6,0	11,0	7,0	12,0	6,0	5,0	4,0	9,0	2,9	4,0	5,0	10,0	10,0	4,0	9,0	11,0	5,0	4,0	11,0
4,0	10,0	3,0	10,0	5,0	5,0	4,0	5,0	6,0	4,0	6,0	11,0	6,0	5,0	5,0	10,0	5,0	5,0	3,7	6,0	8,0	4,0
4,0	12,0	5,0	9,0	5,0	4,0	5,0	7,0	6,0	5,0	6,0	7,6	7,0	6,0	5,0	8,0	2,0	9,5	5,8	5,0	9,0	4,0
4,0	9,0	7,0	8,0	4,0	8,0	4,1	10,0	7,0	6,0	5,0	11,0	11,0	12,0	4,0	10,0	2,0	8,0	4,4	9,0	9,0	8,0
8,0	8,0	6,0	11,0	4,0	6,0	3,5	6,0	6,0	6,0	10,0	7,0	5,0	5,0	4,0	4,0	4,0	8,0	4,9	4,0	5,0	9,0
5,0	5,0	8,0	11,0	4,0	7,1	9,0	4,0	5,0	5,5	10,0	7,0	4,0	5,0	5,0	6,0	2,0	5,0	11,0	4,0	6,0	4,0
6,0	10,0	4,0	10,0	2,0	6,0	3,6															

Tabela 22-Teor de humidade das rolhas (%) no inverno de 2016.

Inverno																				
11,0	7,0	5,0	10,0	7,5	8,0	9,0	12,0	7,0	6,0	4,0	6,0	6,5	6,0	12,0	7,0	5,0	8,0	4,0	4,0	7,0
3,0	6,0	4,0	7,0	5,0	9,0	6,0	12,0	9,0	9,5	12,0	6,0	9,0	8,0	10,0	6,0	5,0	4,0	4,0	9,0	4,0
7,0	8,0	9,0	12,0	5,0	11,0	5,0	12,0	5,0	11,0	8,0	12,0	9,0	4,0	12,0	9,0	5,5	8,0	6,0	6,0	5,0
9,0	10,0	6,0	5,0	9,0	11,0	2,0	9,0	9,0	3,5	8,0	5,0	10,0	5,0	10,0	7,0	11,0	8,0	11,0	9,0	8,0
15,0	6,0	5,0	9,0	9,0	11,0	4,0	7,0	12,0	7,0	7,0	7,5	9,0	6,0	4,0	7,0	4,6	7,0	8,0	11,0	2,0
7,0	9,0	11,0	11,0	9,0	8,0	7,0	4,0	5,0	5,0	12,0	4,0	6,0	5,0	8,0	4,0	6,5	4,0	5,0	8,0	9,0
8,0	12,0	9,9	7,0	5,0	12,0	11,0	5,0	10,0	11,0	8,0	12,0	12,0	7,0	9,0	8,0	6,5	10,0	5,0	9,0	4,0
6,5	7,0	4,3	6,0	4,0	13,0	4,0	9,0	8,0	13,0	7,0	10,0	9,0	5,0	2,0	5,0	12,0	7,0	11,0	11,5	10,0
12,0	6,0	7,0	8,0	9,0	8,0	6,0	10,0	4,0	11,0	5,0	7,0	8,0	10,0	10,0	5,0	10,0	8,0	11,0	12,0	2,0
5,0	8,0	9,0	10,0	6,0	2,0	10,0	5,0	8,0	8,0	10,0	6,0	9,0	8,0	6,1	10,0	6,0	5,0	9,0	8,5	10,0
7,0	7,0	15,0	6,0	5,0	12,0	12,0	10,0	10,0	7,0	2,0	4,5	7,0	12,0	10,0	5,0	9,0	10,0	12,0	7,0	10,0
9,0	2,0	7,0	9,0	11,0	9,0	5,0	8,5	9,0	4,0	5,0	5,5	6,0	5,0	6,0	4,0	10,0	8,0	6,4	9,0	6,0
5,0	5,0	8,0	12,0	11,0	7,0	4,0	10,0	9,0	9,0	10,0	7,0	6,0	9,0	10,0	9,0	15,0	7,0	3,5	7,0	10,0
8,0	9,0	6,5	7,0	5,7	8,0	4,0	6,0	15,0	5,0	7,0	5,0	11,0	5,0	9,0	9,0	9,0	10,0	7,0	7,0	9,0
9,0	8,0	12,0	6,0	6,0	7,5	7,0	12,0	11,0	4,0	9,0	12,0	9,0	12,0	10,0	9,0	12,0	7,0	10,0	10,0	4,0
9,0	4,0	5,0	8,0	12,0	14,0	9,0	10,0	7,0	4,0	7,0	9,0	6,0	6,0	10,0	5,0	4,0	4,0	14,0	11,0	10,0
9,0	6,0	7,0	7,0	11,0	6,0	6,0	11,0	11,0	11,0	10,0	5,0	6,0	8,0	2,0	5,0	9,0	4,0	10,0	6,0	11,0
5,0	6,0	9,0	2,0	9,0	5,0	11,0	8,0	8,0	12,0	7,0	4,0	12,0	8,5	10,0	10,0	8,5	7,0	4,0	8,0	5,0
10,0	7,5	5,0	5,0	12,0	12,0	4,0	11,0	8,0	8,5	5,0	11,0	2,0	5,4	7,0	8,0	11,0	12,0	12,5	8,0	12,0
7,0	5,0	8,0	9,0	7,0	12,0	2,7	9,0	9,0	8,0	9,0	9,0	6,0	2,0	7,0	5,0	6,1	4,0	10,0	8,0	6,0
12,0	5,0	9,0	8,0	9,0	13,0	7,0	10,0	4,0	8,0	8,0	10,0	5,0	7,0	6,0	8,0	9,0	5,0	5,0	7,0	12,0
5,0	9,0	9,0	4,0	12,0	10,0	12,0	14,0	6,0	6,0	12,0	4,0	8,0	13,0	8,0	4,0	7,0	8,0	12,0	4,0	10,0
9,0	9,0	9,0	6,0	10,0	5,0	11,0	7,0	10,0	10,0	7,0	2,0	14,0	12,0	4,0	8,0	8,1	9,5	9,0	7,0	6,0
11,0	9,0	5,0																		