



Departamento de Química  
**Universidade de Aveiro**  
Ano 2017

**Rui Miguel**

**Costa Carmo**

**DESENVOLVIMENTO DE ROLHAS DE CORTIÇA  
COM TRANSMISSÃO DE OXIGÉNIO  
CONTROLADA**



Departamento de Química  
**Universidade de Aveiro**  
Ano 2017

**Rui Miguel  
Costa Carmo**

**DESENVOLVIMENTO DE ROLHAS DE CORTIÇA  
COM TRANSMISSÃO DE OXIGÉNIO  
CONTROLADA**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor Armando Jorge Domingues Silvestre, Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e do Professor Doutor Miguel Freire de Albuquerque Ferreira Cabral, Diretor da Investigação e Desenvolvimento da Amorim & Irmãos, S.A.

Dedico este trabalho aos meus pais, à família que me criou e à memória do meu tio Fernando.

## **o júri**

presidente

Doutor João Manuel da Costa e Araújo Pereira Coutinho  
Professor Catedrático da Universidade de Aveiro

Doutora Margarida Maria da Silva Monteiro Bastos  
Professora Auxiliar da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Doutor Miguel Freire de Albuquerque Ferreira Cabral  
Diretor da Investigação & Desenvolvimento da Amorim & Irmãos, S.A.

## **agradecimentos**

Gostaria de iniciar esta dissertação por expressar a minha gratidão e reconhecimento às entidades e a todos aqueles que, de algum modo, contribuíram para a sua realização.

Ao meu orientador na Universidade de Aveiro, o Professor Doutor Armando Silvestre pela orientação, apoio e disponibilidade concedida ao longo de todo o trabalho.

Ao meu orientador na Amorim & Irmãos, S.A., o diretor da Investigação e Desenvolvimento, o Professor Doutor Miguel Cabral, por todo o apoio, aconselhamento, disponibilidade e bom ambiente de trabalho. Também ao Doutor Paulo Lopes, por todo o acompanhamento e conhecimentos transmitidos.

À Amorim & Irmãos, S.A., pelas oportunidades que me foram concedidas e a todos os que contribuíram para a minha integração.

À Dra. Isabel Roseira, ao Eng.º José Machado, à Eng.ª Ana Malheiro, à D.ª Joaquina Laranjeira, à Patrícia Oliveira, à Salomé Reis e à Glória Espinheira, agradeço todo o apoio, por todos os momentos e pelo ótimo ambiente de trabalho.

Aos amigos com quem cresci, e a todos com quem dividi o meu percurso universitário um muito obrigado, por todos as memórias e momentos.

À família que me criou e, em especial, aos meus pais um enorme agradecimento, por toda a confiança, sacrifício e crença, por fazerem de mim o que sou hoje, e por serem sempre rampa de lançamento para o que poderei ser amanhã

À Fátima, por essa tua alegria, pelo apoio e por tudo o que representas.

## palavras chave

Rolhas, cortiça, oxigénio, oxidação, redução, taxa de transferência de oxigénio, OTR, *scavenger* de oxigénio.

## resumo

A migração de oxigénio da rolha de cortiça para um vinho engarrafado é um fator fundamental na sua evolução e tem tido, cada vez mais, repercussão na indústria dos vedantes. O efeito da sua concentração no vinho, quer por excesso, quer por defeito, origina alterações a nível sensorial, podendo levar ao aparecimento de defeitos. Pelo estudo da variação de entrada de oxigénio numa garrafa selada, pode perceber-se que os primeiros 6 meses são os mais significativos, em especial quando são usadas rolhas de cortiça. Este facto deve-se à compressão da cortiça durante o engarrafamento, que força o ar contido no interior das células a sair. Uma possível forma de diminuir a entrada de oxigénio na garrafa pode passar pelo uso de *scavengers* de oxigénio, diminuindo a quantidade passível de ser libertada para o vinho reduzindo assim a possível ocorrência de defeitos sensoriais.

Assim, este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de rolhas de cortiça com transmissão de oxigénio controlada, com o intuito de potenciar o seu uso como vedantes para vinhos brancos, preservando ao máximo as suas propriedades sensoriais características.

Para isso foram utilizados 5 *scavengers* de oxigénio, nomeadamente, 3-(3,5-di-tert-butil-4-hidroxifenilo) propionato de octadecil (conhecido industrialmente por Irganox 1076, Ix); Tris(2,4-di-tert-butilfenil) fosfito (conhecido industrialmente por Irgafos 168, If); Octadecanamida (Oc); Tetradecanamida (Te) e Nonanamida (No), de modo a tentar compreender qual a sua capacidade de prevenir a migração de oxigénio para o interior da garrafa.

Os principais resultados indicam que, com os *scavengers* testados, é possível reduzir a entrada de oxigénio na garrafa, oriundo do interior da rolha de cortiça. Utilizando os diferentes *scavengers* é possível conseguir rolhas com diferentes capacidades de retenção de oxigénio. Deste modo, e explorando novas formas de incorporar os *scavengers* nas rolhas de cortiça, é possível criar gamas de rolhas com diferentes capacidades de retenção de oxigénio, abrangendo assim uma grande quantidade de vinhos, mediante a sua suscetibilidade à oxidação. Tendo em conta novas formas de incorporar *scavengers* em rolhas de cortiça, a sua utilização poderá vir a ser explorada em rolhas de cortiça natural e de champanhe.

**keywords**

Stoppers, cork, oxygen, oxidized attributes, reduced attributes, oxygen transfer rate, OTR, oxygen scavenger.

**abstract**

As a key factor in wine industry, oxygen's role in cork production is becoming increasingly higher. Too high or too little oxygen is able to develop sensory defects, capable of masking the fruitiness and other trademark sensory characters. In what concerns to cork stoppers and their oxygen transfer rate, the first 12 months after bottling are the most critical ones, probably thanks to the compression of the stopper during the bottling process, expelling the air-like gas inside cork cells. Oxygen scavengers would be a promising solution in lowering the oxygen transfer rate of cork stoppers, diminishing the oxygen contact and the oxidation rate of a wine. With this, the present work is focused in the development of controlled oxygen transfer rate cork stoppers. Thus, in order to evaluate and understand their ability to retain oxygen inside the structure of a cork stopper, 5 types of oxygen scavengers were studied, namely, Octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate; Tris (2,4-di-tert-butylphenyl) phosphite (Irgafos 168); Octadecanamide; Tetradecanamide and Nonanoamide.

The main results suggest that it is possible to reduce the oxygen input into a bottled wine using a cork stopper supplied with an oxygen scavenger. Moreover and envisaging future work, it is possible to further enhance the oxygen retention capability using another ways to embody the scavengers into the cork stopper structure, allowing the creation of a wide range of scavenger supplied cork stoppers, aiming to adapt to each wine and their own sensitivity to oxidation. Furthermore, it is possible to expand this new type of stoppers to natural cork and even to champagne and sparkling wines.



# Índice

Índice de Figuras .....	xi
Índice de Tabelas .....	xiii
Abreviaturas .....	xiv
Preâmbulo .....	xv
<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Amorim &amp; Irmãos, S.A. ....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. A cortiça .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2.1. Morfologia .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.2. Composição química – principais componentes.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.3. Propriedades físico-químicas da cortiça .....</b>	<b>7</b>
<b>1.2.4. Produção de rolhas – Processo geral.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2.4.1. Preparação da cortiça .....</b>	<b>10</b>
<b>1.2.4.2. Produção de rolhas naturais.....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.4.3. Produção de rolhas técnicas .....</b>	<b>13</b>
<b>1.2.5. Outras aplicações da cortiça .....</b>	<b>14</b>
<b>1.3. Controlo de Qualidade .....</b>	<b>15</b>
<b>1.4. O oxigénio, o vinho e a contribuição da rolha .....</b>	<b>16</b>
<b>1.4.1. Oxigénio e enologia .....</b>	<b>16</b>
<b>1.4.2. Oxigenação de uma garrafa de vinho .....</b>	<b>19</b>
<b>1.4.3. Consequências do oxigénio.....</b>	<b>23</b>
<b>1.4.4. Scavengers de oxigénio.....</b>	<b>24</b>
<b>1.4.5. Medições de Oxigénio .....</b>	<b>27</b>
<b>2. Objetivos do Trabalho.....</b>	<b>28</b>
<b>3. Materiais e Métodos.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1. Produção de Rolhas.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2. Preparação para Engarrafamento.....</b>	<b>34</b>
<b>3.3. Engarrafamento .....</b>	<b>34</b>
<b>3.4. Medições de Oxigénio.....</b>	<b>35</b>
<b>3.5. Taxa de Transferência de Oxigénio (OTR).....</b>	<b>36</b>
<b>4. Análise e Discussão dos Resultados .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1. Ensaio de Otimização 1 .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1.1. Comparação de Testemunhas.....</b>	<b>38</b>
<b>4.1.2. Ensaio de Otimização 1 .....</b>	<b>39</b>

<b>4.2.</b>	<b>Ensaio de Otimização 2</b> .....	41
<b>4.3.</b>	<b>Ensaio de Otimização 3</b> .....	43
<b>4.4.</b>	<b>Ensaio de Otimização 4</b> .....	45
<b>5.</b>	<b>Conclusões e Perpetivas de Trabalho Futuro</b> .....	47
<b>6.</b>	<b>Referências</b> .....	49
<b>Anexos</b>	.....	i
A - Medições de Oxigénio	.....	i
B - Diminuição da OTR conseguida por cada amostra (ERO)	.....	x

## Índice de Figuras

Figura 1.1 - Esquema ilustrativo da estrutura da Corticeira Amorim SGPS, SA.	1
Figura 1.2 – Presença da Amorim & Irmãos a nível mundial.	2
Figura 1.3 – Exemplos de tipos de rolhas produzidas pelas unidades industriais da Amorim & Irmãos, SA.	2
Figura 1.4 – Detalhe de uma prancha de cortiça, a matéria-prima da Amorim & Irmãos.	3
Figura 1.5 - Modelo de Bernards para a estrutura da suberina da raiz de tomate.	4
Figura 1.6 - Modelo da estrutura química da lenhina.	5
Figura 1.7 – Ácido elágico, um dos compostos fenólicos mais abundantes na cortiça.	6
Figura 1.8 – Imagem de SEM da secção transversal de um canal lenticular.	8
Figura 1.9 - Representação da disposição das células num corte de uma placa de cortiça.	8
Figura 2.0 - Secção tangencial de amostras de cortiça.	9
Figura 2.1 - Etapas da produção de rolhas naturais: A - rabaneação; B - brocagem; C - escolha.	12
Figura 2.2 - Etapas da produção de rolhas: A - marcação; B - embalagem.	12
Figura 2.3 - Rolhas técnicas produzidas pela Amorim: Twin Top® e Neutrocork®.	13
Figura 2.4 - Etapas da produção de rolhas técnicas: A - aglomeração; B - produção de discos.	14
Figura 2.5 - Sistematização de uma das hipóteses dos mecanismos responsáveis pela oxidação de um vinho.	17
Figura 2.6 - Sistematização de uma das hipóteses dos mecanismos responsáveis pela redução de um vinho e efeitos sensoriais provocados.	18
Figura 2.7 - Fontes de entrada de O <sub>2</sub> após o engarrafamento.	20
Figura 2.8 – Variação da entrada de oxigénio através de uma rolha natural, adaptado de Lopes <i>et al.</i>	21
Figura 2.9 - Vedantes alternativos existentes: A - Cápsula de rosca; B - Vedantes sintéticos.	21
Figura 3.0 - Variação da entrada de oxigénio através de diferentes vedantes, adaptado de Lopes <i>et al.</i>	23
Figura 3.1 - Estruturas dos <i>scavengers</i> que foram incorporados nas rolhas.	27
Figura 3.2 - Representação esquemática dos ensaios realizados.	29
Figura 3.3 - Etapas experimentais realizadas em cada um dos ensaios de produção de rolhas com <i>scavengers</i> de oxigénio.	30
Figura 3.4 - Moldadora piloto utilizada na produção das rolhas contendo <i>scavengers</i> de oxigénio.	31

Figura 3.5 - Pormenor do sensor colado no interior da garrafa num momento de medição de oxigénio.	34
Figura 3.6 - Rolhador semi-automático utilizado.	35
Figura 3.7 - Medidor utilizado para avaliar a entrada de oxigénio por quimioluminescência: A) fibra ótica; B) equipamento.	36
Figura 3.8 - Comparação dos resultados médios obtidos durante a medição da entrada de oxigénio nas amostras testemunha.	38
Figura 3.9 - Rolhas contendo Octadecanamida: grânulos do <i>scavenger</i> visíveis à superfície da rolha	39
Figura 4.0 - Comparação dos resultados médios obtidos e respetivos desvios padrão durante a medição da OTR no ensaio de Otimização 1.	40
Figura 4.1 - Comparação dos resultados médios obtidos e respetivos desvios padrão durante a medição da OTR no ensaio de Otimização 2.	41
Figura 4.2 - Comparação dos resultados médios obtidos e respetivos desvios padrão, durante a medição da OTR no ensaio de Otimização 3.	43
Figura 4.3 - Comparação dos resultados médios obtidos e respetivos desvios padrão, durante a medição da OTR no ensaio de Otimização 4.	45

## **Índice de Tabelas**

Tabela 1.1 - Incidência dos defeitos encontrados no <i>International Wine Challenge</i> .	19
Tabela 1.2 - Componentes e quantidades utilizadas na formulação de cada ensaio.	33
Tabela 1.3 - Redução da OTR conseguida (ERO), em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 2.	42
Tabela 1.4 - Redução da OTR conseguida (ERO), em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 3.	44
Tabela 1.5 - Redução da OTR conseguida (ERO), em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 4.	46

## Abreviaturas

A <sub>w</sub>	Atividade da água
A&I	Amorim & Irmãos
ERO	Eficiência de Retenção de Oxigênio
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
GC-ECD	Cromatografia gasosa com detetor de captura eletrónica
If	Irgafos
Ix	Irganox
I&D	Departamento de Investigação e Desenvolvimento
3MH	3-Mercaptohexan-1-ol
3MHA	Acetato de 3-Mercapto-hexilo
No	Nonanoamida
Oc	Octadecanamida
OTR	Taxa de transferência de oxigênio
Te	Tetradecanamida
TCA	2,4,6 – Tricloroanisol

## Preâmbulo

O presente trabalho foi realizado durante o estágio curricular no Departamento de Investigação e Desenvolvimento da Amorim & Irmãos, S.A. No seu decorrer foram cumpridos todos os objetivos propostos:

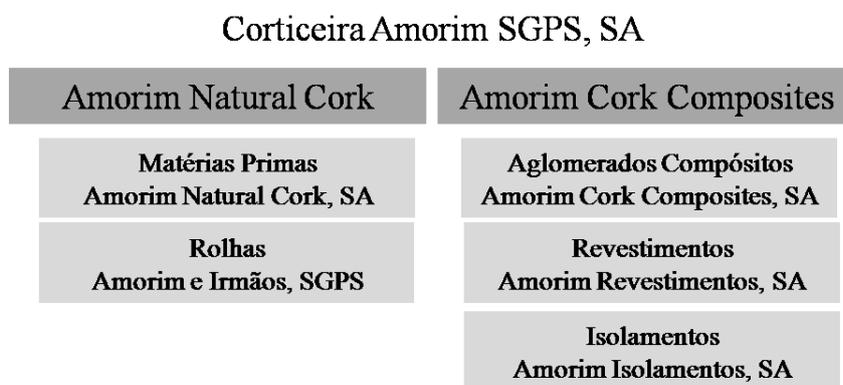
- Testar a viabilidade da adição de *scavengers* de oxigénio em rolhas, de modo a controlar a sua libertação da estrutura celular da cortiça;
- Desenvolver e testar uma formulação que originasse uma diminuição na entrada de oxigénio na garrafa em maturação, após o engarrafamento;
- Produção de um lote industrial de rolhas contendo *scavengers* de oxigénio, de modo a comparar os resultados e antever possíveis problemas aquando do scale-up (por ainda estar a decorrer, os dados referentes a este ensaio não constam dos resultados do presente documento).

Além disso, foram ainda acompanhados outros trabalhos, inseridos no funcionamento geral do departamento de Investigação & Desenvolvimento da empresa, não constando também esses resultados na presente dissertação, destacando-se o controlo da qualidade das rolhas produzidas na Amorim & Irmãos, quer por quantificação de 2,4,6 – Tricloroanisol (TCA), quer por ensaios visuais, físico-mecânicos e análise sensorial, que fazem parte da rotina do laboratório do departamento de I&D.

# 1. Introdução

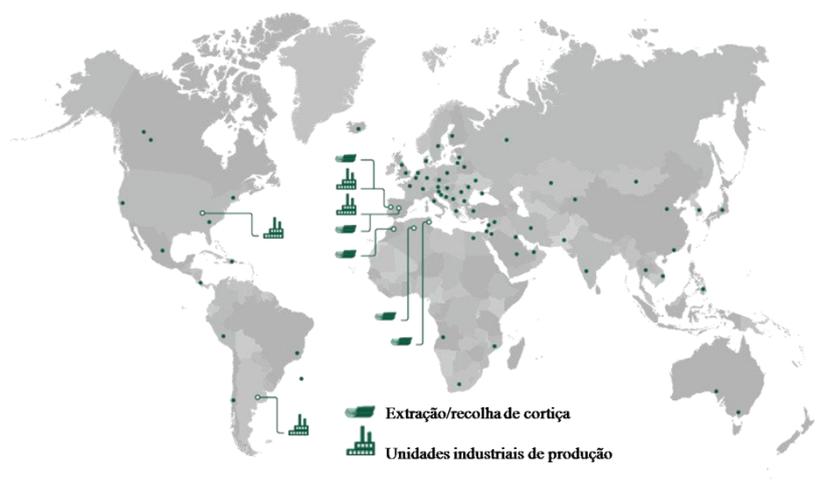
## 1.1. Amorim & Irmãos, S.A.

Criada em 1870 como uma pequena fábrica de rolhas de cortiça, a Amorim & Irmãos (A&I), sediada em Santa Maria de Lamas, faz parte do Grupo Corticeira Amorim S.G.P.S., S.A. Esta é a maior empresa mundial de produtos de cortiça e uma das mais internacionais de todo o leque de empresas em Portugal, com negócios em mais de 100 países de todos os continentes [1,2]. Além da Unidade de Negócio Rolhas, a Corticeira Amorim dispõe de um vasto leque de produtos e aplicações para a cortiça, que vão desde o seu uso na construção, como isolante em edifícios ou como suporte de relvados em estádios de futebol, até aplicações que exigem elevada tecnologia e a mais alta *performance*, como o caso da indústria aeronáutica ou automóvel (Figura 1.1).



**Figura 1.1 - Esquema ilustrativo da estrutura da Corticeira Amorim SGPS, SA.**

A Amorim e Irmãos – Unidade de Negócio Rolhas – é o maior produtor/fornecedor de rolhas de cortiça a nível mundial, detendo cerca de 35% de quota de mercado mundial, o que totaliza uma produção anual de cerca de 4 mil milhões de rolhas. A fim de manter uma relação estreita com todos os clientes, desde o maior produtor ao vitivinicultor caseiro, foram criadas subsidiárias da Amorim & Irmãos nos principais países produtores de vinho, assim como nos mercados emergentes (Figura 1.2) [1].



**Figura 1.2– Presença da Amorim & Irmãos a nível mundial [3].**

Atualmente, a produção de rolhas encontra-se dividida em 3 eixos segundo a sua utilização: rolhas para vinhos tranquilos, para vinhos efervescentes e para vinhos licorosos/espirituosos. Para a produção das diferentes rolhas, a A&I conta com 8 unidades industriais, o que lhe permite satisfazer os vários segmentos de mercado e produzir, para cada um deles, diferentes tipos de rolhas (Figura 1.3) que se ajustem aos pedidos e necessidades dos diferentes clientes e às exigências de qualidade dos vinhos a que se destinam.



**Figura 1.3 – Exemplos de tipos de rolhas produzidas pelas unidades industriais da Amorim & Irmãos, SA. [4].**

Após a sua génese em 1870, a Amorim & Irmãos tem um amplo historial de inovação e aposta no desenvolvimento, alicerçado desde 1999 no Departamento de Investigação e Desenvolvimento (I&D), cujos principais objetivos foram: a resolução da questão do 2,4,6-

Tricloroanisol (TCA), o principal contaminante da cortiça e cuja presença origina perdas avultadas todos os anos; o desenvolvimento de novas aplicações para a cortiça; o melhoramento dos processos industriais, quer em termos de *performance*, quer em termos de eficiência e, em geral, a obtenção de novos conhecimentos, quer sobre a cortiça quer sobre a sua mais importante utilização, a rolha, assim como na procura de novas aplicações e soluções, que aumentem tanto a qualidade do produto como a eficiência da sua produção [1].

## 1.2. A cortiça

Sendo a casca do sobreiro (*Quercus suber L.*), a cortiça é uma camada protetora constituída por células mortas suberizadas [5]. O sobreiro é uma árvore de crescimento lento, da família dos carvalhos e que cresce, essencialmente, na zona ocidental do Mediterrâneo, quer no sul da Europa (Portugal, Espanha, Sul de França e Itália) quer no Norte de África (Tunísia, Argélia e Marrocos). O continente europeu contém até metade da área de produção mundial, chegando a produzir cerca de 80% da cortiça [6], encabeçado por Portugal, o maior produtor, (com cerca de 50% dessa produção) cujas indústrias processam aproximadamente 75% da cortiça produzida [7]. Por ser um produto natural, renovável e de produção sustentável [5], a cortiça é utilizada há já muito tempo em diversas aplicações, sendo talvez a mais notável a produção de rolhas de cortiça para bebidas, o setor de atividade a que se dedica a A&I [8].



Figura 1.4 – Detalhe de uma prancha de cortiça, a matéria-prima da Amorim & Irmãos [2].

### 1.2.1. Morfologia

A estrutura celular da cortiça foi detalhadamente estudada, por microscopia eletrônica de varrimento (SEM), em 1987 [9] apesar de ter sido Hooke [10] o primeiro a descrevê-la, após observação por microscopia ótica. Quando observada ao microscópio, a cortiça pode ser descrita como um tecido homogêneo, constituído por células dispostas de modo compacto e forma regular, sem que haja espaços entre elas, contendo um gás semelhante ao ar no seu interior, numa estrutura alveolar (Figura 1.4) que se assemelha com a de um favo de mel [11]. As células constituintes têm a forma de prismas retangulares e estão empacotadas em colunas paralelas. A cortiça contém ainda canais lenticulares cujo diâmetro e número é variável, influenciando a densidade e porosidade da cortiça (abordadas na secção 1.2.3 – Propriedades físico-químicas da cortiça) [5]. Os canais lenticulares existentes também possuem forma cilíndrica, não alterando assim a configuração existente [5].

### 1.2.2. Composição química – principais componentes

#### Suberina

Atualmente existem vários modelos para descrever a estrutura da suberina, sendo o mais aceite o proposto por Bernards em 2002 (Figura 1.5) num estudo sobre raiz de tomate [12].

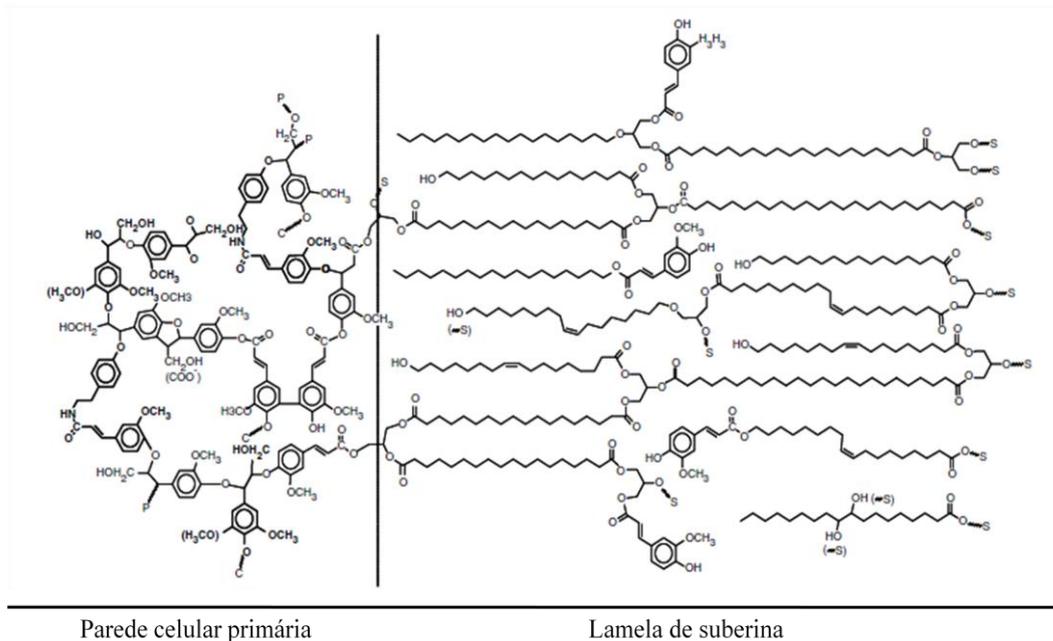
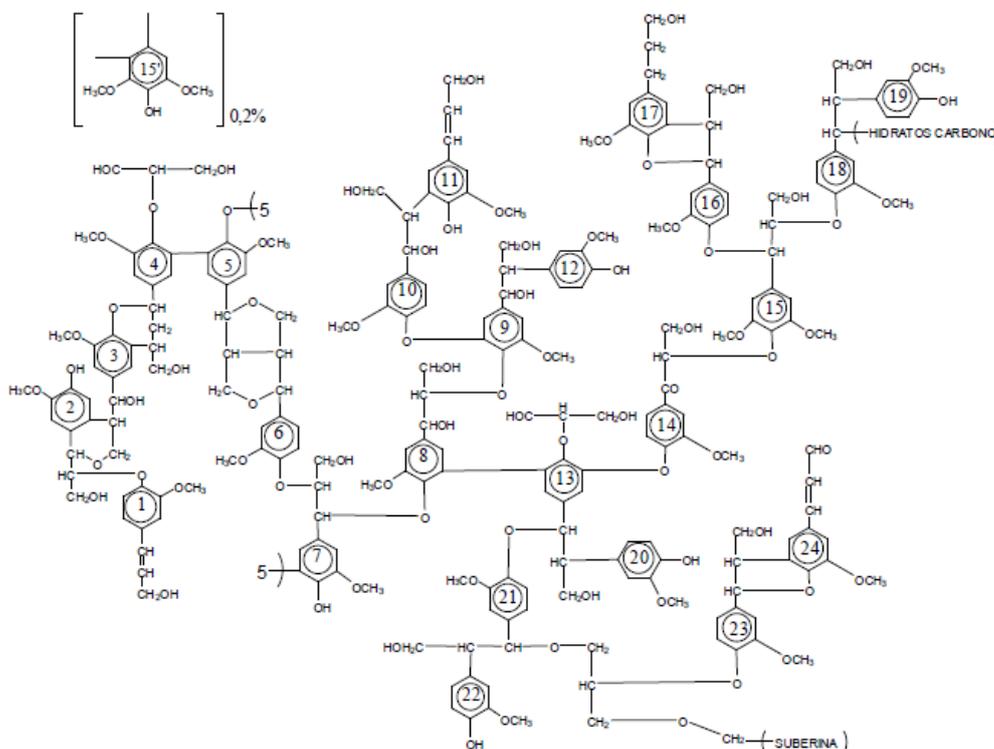


Figura 1.5 - Modelo de Bernards para a estrutura da suberina da raiz de tomate [12].

Assim, a suberina pode ser descrita como um poliéster reticulado, de glicerol,  $\omega$ -hidroxiácidos e  $\alpha,\omega$ -diácidos e ácido ferúlico [12,13]. Estudos sobre os monómeros constituintes da suberina indicam como constituintes mais abundantes os  $\omega$ -hidroxiácidos (36-61,7%), os  $\alpha,\omega$ -diácidos (6,1-53,3%), quantidades inferiores a 15% de ácidos gordos, álcoois aromáticos, compostos aromáticos e ainda glicerol, que pode totalizar até 14% da massa da suberina [13]. Pela sua índole hidrofóbica, a suberina tem um papel fundamental na impermeabilidade da cortiça.

### Lenhina

A lenhina é um polímero amorfo e reticulado (Figura 1.6), composto por monómeros do tipo fenilpropano, sendo que a proporção de cada monómero pode variar com a espécie vegetal que está a ser estudada [5,14,15,16].



**Figura 1.6 - Modelo da estrutura química da lenhina [17].**

### Polissacarídeos

Além dos constituintes da cortiça mais abundantes, a suberina e a lenhina, há também que ter em conta os polissacarídeos. Os polissacarídeos existentes na cortiça, a celulose e as hemiceluloses [18,19], servem de suporte estrutural, impedindo as células de colapsarem [18]. A celulose é um homopolissacarídeo linear, composto por monómeros de  $\beta$ -D-glucose que estão

ligados entre si por ligações  $\beta$ -(1,4). As hemiceluloses, por sua vez, pela diversidade dos seus monómeros constituintes e pelo facto de existirem entre eles ligações diferentes [ $\beta$ -(1,4) e  $\alpha$ -(1,3)] que originam ramificações, são heteropolissacarídeos irregulares. No que toca à cortiça, a hemicelulose mais comum é a xilana, composta essencialmente por xilose e quantidades menores de glucose, arabinose, galactose e manose [14,19,20].

### Compostos extratáveis

Além dos componentes que pertencem à sua estrutura, a cortiça contém ainda alguns compostos de baixo peso molecular que, por não estarem covalentemente ligados, são relativamente fáceis de extrair fazendo uso de solventes adequados [21]. Estes compostos podem ser subdivididos mediante a sua polaridade (ou mediante a polaridade dos solventes utilizados na sua extração): os compostos fenólicos, extraídos fazendo uso de solvente polares como água e etanol [22] e os compostos denominados de ceras, que são extraídos usando solventes apolares ou pouco polares, como o éter, hexano e benzeno [14].

### Compostos fenólicos

Estes compostos representam uma fração inferior a 10% na cortiça, podendo ser derivados do ácido benzóico, flavonóides e ainda compostos polifenólicos, como os taninos [5,16], sendo alguns dos componentes mais abundantes o ácido gálico e o ácido elágico (Figura 1.7) [23,24].

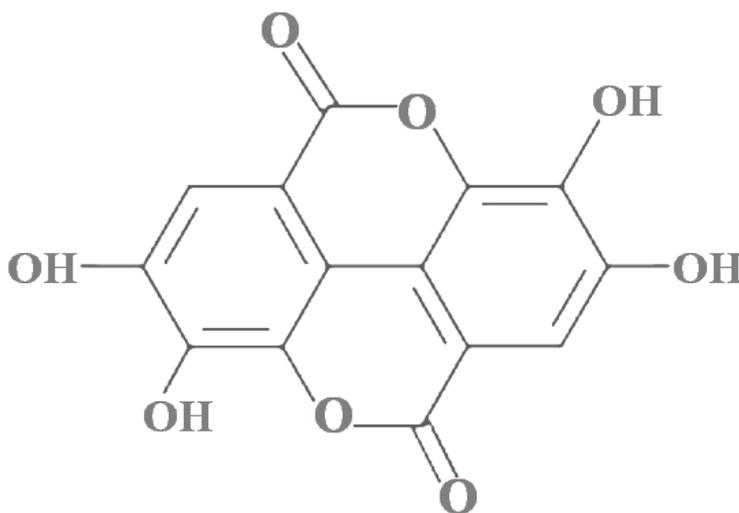


Figura 1.7 – Ácido elágico, um dos compostos fenólicos mais abundantes na cortiça.

### Ceras

Este grupo de compostos compõe uma grande parte dos extratáveis da cortiça, sendo essencialmente constituído por triterpenos, contendo ainda compostos alifáticos como n-alcanos, glicerol, ácidos gordos e triglicéridos [5].

Considera-se que este grupo de compostos tem influência numa das características distintivas da cortiça, a sua impermeabilidade [26,27].

## **1.2.3. Propriedades físico-químicas da cortiça**

### Densidade

Sendo um material de origem natural, a cortiça apresenta uma densidade variável não só em função da informação genética do sobreiro que lhe esteve na origem mas também de outros fatores como a matriz [16,28] e o clima [5]. Além destes fatores, a densidade depende ainda do processo industrial a que é sujeita a cortiça, em especial o processo de cozedura.

Durante a preparação industrial (por exemplo, para o fabrico de rolhas) a cortiça passa por um processo de cozedura, com o intuito de a tornar mais lisa e fácil de trabalhar, aumentar o seu volume e reduzir a microflora existente [5,29]. Assim, devido à expansão e aumento de volume (muitas vezes resultando num aumento de cerca de 30%), a densidade após a cozedura é inferior [5,16].

Os canais lenticulares presentes na cortiça (Figura 1.8) também têm influência na sua densidade [5]. Em todo o caso, estes canais não refletem, forçosamente, uma diminuição da densidade pois estão rodeados por células com paredes celulares mais espessas e cuja densidade é superior à da restante estrutura celular, permitindo assim compensar e até levar a um aumento da densidade da cortiça [16].

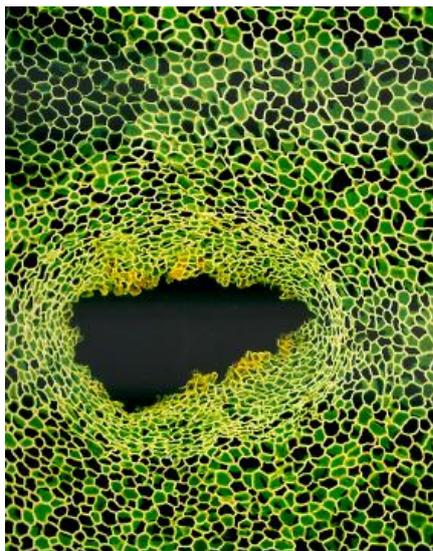


Figura 1.8 – Imagem de SEM da secção transversal de um canal lenticular [30].

### Porosidade

A porosidade da cortiça é função do volume que os canais lenticulares ocupam, sendo normalmente avaliada na secção tangencial da prancha ou rolha de cortiça (Figura 1.9) [5].

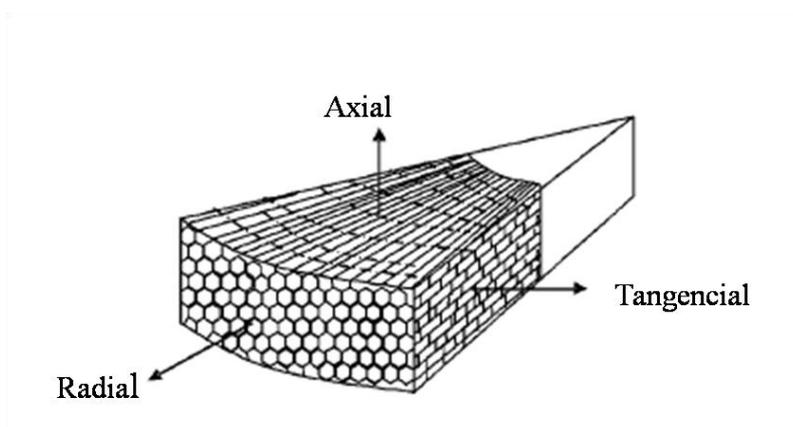


Figura 1.9 - Representação da disposição das células num corte de uma placa de cortiça [5].

Assim, a porosidade é uma das propriedades mais importantes da cortiça no contexto industrial pois, é através dela que é feita a avaliação da qualidade, sendo a sua análise um ponto fulcral no processo produtivo das rolhas (Figura 2.0) [5, 29].



**Figura 2.0 - Secção tangencial de amostras de cortiça.**

No que toca a valores de porosidade, existem cortiças com poucos e finos canais lenticulares (cortiça de boa qualidade com porosidades inferiores a 1%) até cortiças com porosidades na ordem dos 30%, com canais lenticulares de dimensões consideráveis (cortiça de menor qualidade) [16]. A cortiça que é utilizada para fabrico de rolhas naturais é alvo de uma escolha prévia, o que garante que não possui porosidades superiores a 10%.

### Impermeabilidade

Como anteriormente referido, a parede celular das células de cortiça é rica em suberina, o que lhe confere impermeabilidade pela sua índole hidrofóbica [30]. A presença de compostos extratáveis (as ceras), também tem influência na impermeabilidade da cortiça [26,27].

### Compressibilidade

A cortiça apresenta propriedades mecânicas muito particulares. Durante um processo de compressão, a cortiça atravessa 3 fases distintas de alteração da sua estrutura: a deformação elástica das células, a dobragem das paredes celulares e, por fim, o colapso das paredes e, consequentemente, esmagamento das células [5,16]. Na primeira fase (deformação elástica), devido à pressão que está a ser exercida, ocorre uma flexão das paredes celulares e o empacotamento das células, de forma mais ou menos uniforme por toda a área da cortiça. Na fase seguinte, continua a haver alteração da estrutura celular, devido à deformação das paredes celulares. Por fim, se a pressão continuar a ser exercida, ocorre o colapso das paredes celulares, levando ao esmagamento das células [5,16].

Assim, a cortiça pode ser classificada como um material viscoelástico, ou seja, quando a tensão é removida, a recuperação não é total nem instantânea, sendo que, em todo o caso,

dependendo da temperatura, da quantidade e da rapidez da pressão aplicada, pode ocorrer uma recuperação da estrutura inicial [16].

#### **1.2.4. Produção de rolhas – Processo geral**

##### **1.2.4.1. Preparação da cortiça**

Descortiçamento: a extração da cortiça do sobreiro ocorre de 9 em 9 anos, iniciando-se em Maio e podendo estender-se até Agosto, naquela que é a altura de maior crescimento da cortiça, facilitando a sua extração sem danificar a árvore [29,31]. Ainda assim, são precisos cerca de 25 anos para que se possa extrair a primeira cortiça e, além disso, só do terceiro descortiçamento em diante é que esta apresenta qualidade suficiente para a produção de rolhas.

Assim, a cortiça pode ser dividida em 3 classes, mediante a sua qualidade e data de descortiçamento. No primeiro, obtém-se a denominada cortiça **virgem**, a primeira que o sobreiro produziu nos seus 25 anos. Esta apresenta uma estrutura bastante irregular, sendo atravessada por sulcos e tendo uma dureza que dificulta a sua utilização, sendo por isso direcionada para outros fins, como pavimentos e isolamentos [31]. No segundo descortiçamento, 9 anos depois, obtém-se a cortiça **secundeira**, já mais regular e macia, mas ainda sem a qualidade necessária ao fabrico de rolhas [31]. Do terceiro descortiçamento em diante, obtém-se então uma cortiça já com as características necessárias à produção de rolhas, a denominada cortiça **amadia** ou de reprodução que, ao longo da vida útil da árvore, poderá ser extraída do sobreiro a cada 9 anos, numa média de 15 descortiçamentos, havendo alguns casos que ultrapassam esse número [31].

Estabilização: depois da extração, a cortiça é levada para um estaleiro, com o intuito de ficar a estabilizar, durante pelo menos 6 meses. As pranchas são empilhadas de forma a maximizar o escoamento de água e a circulação de ar, a fim de atingirem um teor de humidade uniforme, estando ao ar livre, sujeitas ao sol e à chuva. Durante este processo também ocorre um melhoramento da textura da cortiça, tornando-a mais suave [31].

Cozedura: depois da etapa de repouso e antes de qualquer outro processo industrial, a cortiça é cozida durante cerca de 1h num tanque de tratamento, com o intuito de a limpar e extrair os contaminantes que estejam presentes e de a tornar mais macia e elástica, ficando mais fácil de manusear e trabalhar. Deste modo, durante o processo, o ar contido nas células expande, levando a um aumento de cerca de 20% do volume da cortiça. Assim, esta etapa além de melhorar a estrutura interna da cortiça, introduz um passo de tratamento térmico, o que leva a uma redução da microflora existente [29,31].

Estabilização e seleção das pranchas: logo após a cozedura, há a necessidade de uma nova etapa de estabilização. Assim, as pranchas são colocadas empilhadas, numa área limpa e bem ventilada, com o intuito de as aplanar e, em especial, diminuir o teor de humidade (que aumentou com a cozedura) para níveis adequados ao seu processamento [29,31]. Depois de já estabilizadas, as pranchas são preparadas e sujeitas a uma avaliação inicial, sendo separadas por classes/calibres mediante a sua espessura, porosidade e aspeto [29,31].

#### **1.2.4.2. Produção de rolhas naturais**

Rabaneação: no início da produção das rolhas, as pranchas de cortiça são cortadas em tiras, com largura suficiente para que seja possível a extração da rolha a fabricar (Figura 2.1A) [32].

Brocagem: processo que consiste em perfurar as tiras de cortiça com uma broca, obtendo uma rolha de cortiça inteira. Esta pode ser feita de forma manual (dá origem a rolhas de melhor e mais consistente qualidade e, por isso, a melhor cortiça é processada desta forma) ou automática (Figura 2.1B) [29].

Os subprodutos desta fase (apenas 25% da cortiça é convertida em rolhas naturais) vão ser aproveitados para a produção de granulado de cortiça e utilizados em rolhas técnicas [29].

Acabamento/Retificação mecânica: as rolhas são sujeitas a consecutivas operações mecânicas, nomeadamente retificação dos topos e polimento de toda a superfície com o intuito de obter as dimensões pretendidas [32].

Seleção prévia: logo após a etapa precedente, as rolhas são sujeitas a um processo de escolha, de modo a remover todas as que apresentem defeitos que comprometam a sua qualidade e impeçam a sua utilização como vedante [32]. Esta escolha pode ser feita de forma manual ou de forma automática.

Lavação e Secagem: seguidamente, as rolhas são sujeitas a um processo de “lavação”, com solução aquosa de peróxido de hidrogénio e/ou soluções aquosas ácidas, com o intuito de limpar e desinfetar as rolhas. Logo após as rolhas sofrem um processo de secagem térmica, para diminuir o teor de humidade. Assim, ao diminuir a humidade interna da rolha, a lavação contribui ainda com uma medida adicional de inibição de crescimento de microrganismos [32].

Escolha das rolhas: aqui as rolhas são seleccionadas e separadas de acordo com a sua qualidade, sendo o principal critério a avaliação da porosidade. Esta escolha pode ser feita de forma manual (por profissionais qualificados através da seleção visual, Figura 2.1C) ou de forma

automática, fazendo uso de sensores óticos que, programados para reconhecer configurações padrão, são capazes de fazer a separação das rolhas mediante a sua qualidade recorrendo a árvores de decisão.



Figura 2.1 - Etapas da produção de rolhas naturais: A - rabaneação; B - brocagem; C - escolha [32].

Marcação: depois de prontas as rolhas são marcadas, ou seja, é aplicado um logótipo ou texto, de acordo com as especificações do cliente, assim como a contramarca e o código indicativo do fornecedor, Figura 2.2A. A marcação pode ser feita a tinta (de qualidade alimentar), a fogo ou, mais recentemente, a laser, sendo que os topos das rolhas só podem ser marcados com as 2 últimas técnicas [29,32].

Tratamento de Superfície: nesta etapa, a superfície das rolhas é revestida com uma camada de parafina e/ou silicone, de forma a melhorar a textura e uniformidade da rolha, a sua capacidade de vedação e facilitar o engarramento e posterior extração [29].

Embalamento e Expedição: por fim, os lotes são embalados em sacos herméticos, contendo dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), que funciona como inibidor microbiano, selados e preparados para o transporte (Figura 2.2B) [29,32].



Figura 2.2 - Etapas da produção de rolhas: A - marcação; B - embalagem [32].

### 1.2.4.3. Produção de rolhas técnicas

Uma rolha técnica é composta por grânulos de cortiça, obtidos a partir dos desperdícios da brocagem ou resultantes da trituração de pranchas demasiado delgadas para a produção de rolhas naturais [29,33]. Além do corpo aglomerado, as rolhas técnicas podem ou não conter discos de cortiça natural, sendo que, no portefólio de produtos da A&I podem ser encontrados ambos os casos (Figura 2.3): as rolhas Twin Top®, compostas por um corpo aglomerado e um disco de cortiça em cada topo e as rolhas Neutrocork®, compostas apenas por grânulos de cortiça [34].



Figura 2.3 - Rolhas técnicas produzidas pela Amorim: Twin Top® e Neutrocork®.

Assim, a produção de rolhas técnicas pode ser dividida em 2 fases: a produção dos componentes da rolha (o corpo aglomerado e os discos de cortiça, caso a rolha os tenha) e a montagem da rolha [33].

Granulação: em primeiro lugar, ocorre a trituração dos subprodutos de cortiça, dando origem ao granulado (de diferentes tamanhos) que irá compor a rolha.

Aglomerção: depois, é necessário aglutinar o granulado, dando forma ao corpo da rolha. Para isso, são usados agentes aglutinantes (como colas de poliuretano) de qualidade alimentar, sendo o aglomerado formado por moldação individual ou por extrusão (formados os bastões de cortiça aglomerada, são depois cortados com a medida das rolhas a produzir, Figura 2.4A) [29,33].

Produção de discos: as pranchas de cortiça mais delgadas, que não serviam para a produção de rolhas naturais, são selecionadas e passam por um processo de cozedura idêntico ao das pranchas mais grossas. Depois, são aparadas de forma a produzir tiras com cerca de 6,5mm de espessura, que são depois brocadas de forma a extrair cilindros com diâmetro igual ao das rolhas a

produzir, Figura 2.4B [29,33]. Quando prontos, os discos são separados em 4 classes e, para assegurar a higiene e segurança da zona da rolha que contacta com o vinho, são alvo de um processo de lavagem e secagem [29,33].



Figura 2.4 - Etapas da produção de rolhas técnicas: A - aglomeração; B - produção de discos [33].

Montagem da rolha: a montagem é feita de forma automática. Os discos passam por um processo de seleção que, com recurso a sistemas óticos, avalia qual o lado que vai contactar com o vinho. O lado oposto é colado ao cilindro de aglomerado usando cola de qualidade alimentar. Depois da montagem, a rolha sofre um processo de secagem e é depois retificada, com o intuito de obter as dimensões certas. As etapas de lavação, seleção, acabamento e embalagem são idênticas às do processo das rolhas naturais [29,33].

### 1.2.5. Outras aplicações da cortiça

A cortiça é um produto único que pode ser utilizado como matéria-prima nas mais diversas aplicações, como pavimentos, isolamentos de paredes, solas de sapatos, etc. Muitos destes produtos, partem de granulados de cortiça, que depois são aglomerados de diversas formas sendo denominados de produtos aglomerados. Nestes estão incluídos os aglomerados negros, brancos e o denominado *rubbercork* [35].

Os aglomerados negros são produzidos a partir dos desperdícios de cortiça triturados, sendo depois expostos a temperatura e pressão elevadas, dentro de uma autoclave [35]. Estas condições extremas promovem a degradação termoquímica parcial das paredes celulares, sendo que os subprodutos dessa degradação vão funcionar como aglomerantes naturais, não sendo por isso necessário o uso de colas [36,37]. Este tipo de aglomerado é utilizado essencialmente na

construção, quer como isolante térmico e acústico, quer como elemento decorativo em fachadas [35,38].

O aglomerado branco, por sua vez, é produzido a partir da trituração de aparas, resultantes da produção de rolhas naturais ou discos de cortiça [29]. Neste processo é necessário utilizar um produto adesivo, como uma cola ou resina, de modo a aglomerar os grânulos de cortiça [35].

Dos produtos aglomerados, o branco é talvez aquele com as aplicações mais vastas e diversificadas: produção de rolhas técnicas, uso em vestuário e calçado (malas, cintos, solas e sapatos), na área desportiva (bolas de *baseball*, raquetes) entre outros (desde chapéus de chuva, a capacetes de proteção e quadros de cortiça) [38,39].

Por fim, o *rubbercork* é um produto aglomerado que utiliza como material adesivo o latex (borracha) [35]. Assim, é possível combinar as inúmeras propriedades da cortiça que, aliadas às da borracha, dão origem a produtos utilizados em indústrias muito variadas mas muito exigentes no que toca à *performance*, como a automóvel, naval, aérea e espacial [38].

Em todo o caso, além de todos os produtos já enumerados e apesar da diversidade de aplicações para as quais a cortiça pode ser matéria-prima, a principal aplicação e aquela que lhe confere mais valor acrescentado é, de facto, a produção de rolhas [5,40]. Até aos dias de hoje, a cortiça tem-se afirmado como o melhor e mais completo material para vedar vinhos, quer com rolhas naturais, quer com rolhas técnicas, muito devido à sua origem natural e renovável, às suas propriedades intrínsecas e à influência positiva que tem no envelhecimento dos vinhos [5]. Enquanto as rolhas naturais são diretamente usadas com vedantes, as rolhas técnicas são formadas por corpos aglomerados aos quais são colados discos nos topos, como é o caso das rolhas de champanhe e Twin Top® [38,41,42].

### **1.3. Controlo de Qualidade**

Quer durante a produção, quer depois da rolha acabada, a qualidade é uma das apostas da A&I. Além do laboratório central, localizado no Departamento de I&D, cada unidade industrial possui um laboratório próprio, a fim de efetuar um apertado controlo de processo e produto. Também as empresas de distribuição, incluindo as internacionais, contam com laboratórios a fim de analisar o produto antes de chegar ao cliente, com o intuito de garantir todas as especificações e padrões de qualidade exigidos [43]. Assim sendo, de forma geral e sintética, os ensaios de controlo de qualidade realizados pela Amorim podem ser divididos em:

- Ensaios visuais: para análise da classe da rolha e procura de possíveis defeitos;
- Ensaios físico-mecânicos: avaliação das dimensões (comprimento, diâmetro), humidade, massa, capacidade de vedação, força de extração;

- Análise sensorial: verificação da existência de odores/sabores vindos da cortiça ou outros, estranhos e indesejados;
- Ensaio químicos: quantificação de 2,4,6 – Tricloroanisol (TCA), cuja quantificação e controlo foram talvez a principal razão que levou à criação do Departamento de I&D.

O TCA é considerado o principal responsável pela contaminação das rolhas de cortiça e apontado como o principal defeito encontrado em vinhos [44], sendo produzido por microrganismos presentes na cortiça, em especial, fungos [45]. O TCA é relativamente fácil de detetar, devido ao odor a mofo que confere aos vinhos [45]. Com o intuito de reduzir/eliminar os prejuízos causados pela sua presença, o controlo de qualidade da A&I faz uso de sistemas avançados de análise de elevada sensibilidade, quer por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), quer por cromatografia gasosa com detetor de captura eletrónica (GC-ECD) para controlar aquele composto [43,46].

Além do controlo que é aplicado à produção, a preocupação constante com o TCA, levou a A&I a inovar, dando origem a tecnologias que foram aplicadas ao processo geral de produção de rolhas, de modo a reduzir a concentração de TCA nos seus produtos, como o sistema de cozedura usado na A&I (CONVEX®) [43].

## **1.4. O oxigénio, o vinho e a contribuição da rolha**

### **1.4.1. Oxigénio e enologia**

A influência do oxigénio nos vinhos é consensual e inegável mas, o seu impacto (positivo ou negativo) está longe de o ser. Já desde 1873 que Pasteur [47] evidenciou este facto ao afirmar que “*l’oxygène est le pire ennemi du vin*” e “*c’est l’oxygène qui fait le vin, c’est par son influence qu’il vieillit*” (“o oxigénio é o pior inimigo do vinho” e “é o oxigénio que faz o vinho, pois este envelhece/matura sobre a sua influência”). Desde então, não se conseguiu obter uma conclusão inequívoca e consensual mas, em todo o caso, hoje em dia admite-se que, uma exposição reduzida e controlada ao oxigénio parece ter um efeito positivo na maturação dos vinhos [48]. Ainda assim, e apesar de aceite, a extensão desta afirmação não é igual em todos os vinhos: no que toca aos vinhos tintos, alguma exposição ao oxigénio é, de facto, positiva pois leva à melhoria/estabilização da cor, à redução da adstringência e à melhoria na perceção de aromas [48,49]. Relativamente aos vinhos brancos, salvo raras exceções, a grande maioria quase não tolera oxigénio, levando à ocorrência de fenómenos de acastanhamento (*browning*), à perda de aromas frutados resultantes da fermentação e ao desenvolvimento de aromas indesejados [50,51]. Existem casos particulares de vinhos brancos que beneficiam da ação do oxigénio, tais como os *Chardonnays da Borgonha*, que desenvolve uma cor dourada e aromas resultantes de maturação em ambiente mais oxidativo

[52,53]. Assim, o impacto do oxigénio pode variar com o tipo de vinho, mas também com as características intrínsecas de cada vinho [49].

Apesar de poder ser considerado benéfico, a presença em excesso do oxigénio nos vinhos tem como consequência mais direta e óbvia, a oxidação. Ainda que, em muitos casos, as reações responsáveis ainda não estejam totalmente esclarecidas, sabe-se que se iniciam com a oxidação de derivados do catecol levando à formação de quinonas e reduzindo o oxigénio a peróxido de hidrogénio [49]. Este, na presença de iões metálicos, como ferro e cobre, vai ser capaz de oxidar o ácido tartárico e o etanol presentes, originando acetaldeído (Figura 2.5) que, de um certo limiar em diante, passa a ser perceptível, sendo considerado um defeito [49]. Além da influência do acetaldeído, também as quinonas formadas vão ter um efeito direto nas propriedades sensoriais: apesar de os mecanismos ainda não estarem bem compreendidos, sabe-se que as quinonas vão ligar-se aos tióis presentes no vinho, fazendo com que a sua influência no plano sensorial deixe de ser sentida [49]. Também a alteração de cor e redução da adstringência (esta segunda mais relevante nos vinhos tintos) ocorrem parcialmente devido a reações de oxidação, como por exemplo, pela degradação de antocianinas e taninos, compostos que influenciam diretamente a cor e a adstringência de um vinho [49].

Assim, as reações de oxidação levam não só ao desenvolvimento de aromas indesejáveis mas também contribuem para a perda de aromas/sabores frutados ou resultantes da fermentação, considerados característicos.

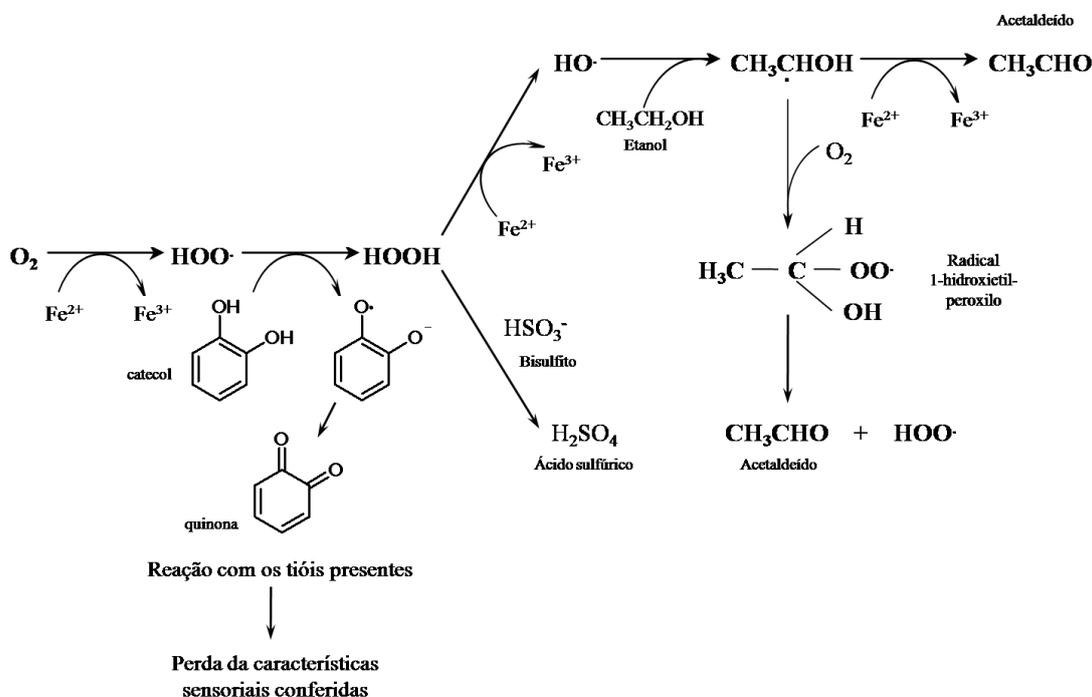


Figura 2.5 – Sistematização de uma das hipóteses dos mecanismos responsáveis pela oxidação de um vinho.

Por outro lado, a falta de oxigénio tem um outro efeito bastante prevalente no plano sensorial de um vinho: a redução. Durante a maturação em garrafa, podemos admitir que um vinho parte de um estado reduzido e, com a oxidação, as suas características vão sendo aprimoradas [49].

No que toca aos mecanismos responsáveis por este processo ainda há muito por conhecer mas, atualmente supõe-se que, a falta de oxigénio vai despoletar uma reorganização das reações responsáveis pelos mecanismos de oxidação (Figura 2.5) mas em que o oxigénio (em falta) é substituído por compostos como os sulfitos que, por diversas fontes, estão presentes naturalmente nos vinhos e, catalisadas por metais ou até ácido ascórbico, vão originar quinonas e sulfureto de hidrogénio ( $H_2S$ ) (Figura 2.6). Assim, a formação de quinonas continua a ocorrer, assim como a sua ação nos tióis presentes. Mais ainda, a presença do sulfureto de hidrogénio gera aromas/sabores desagradáveis e ainda permite a reação com o etanol presente, levando à produção de etanotiol que também contribui para a degradação das características sensoriais do vinho em causa [54].

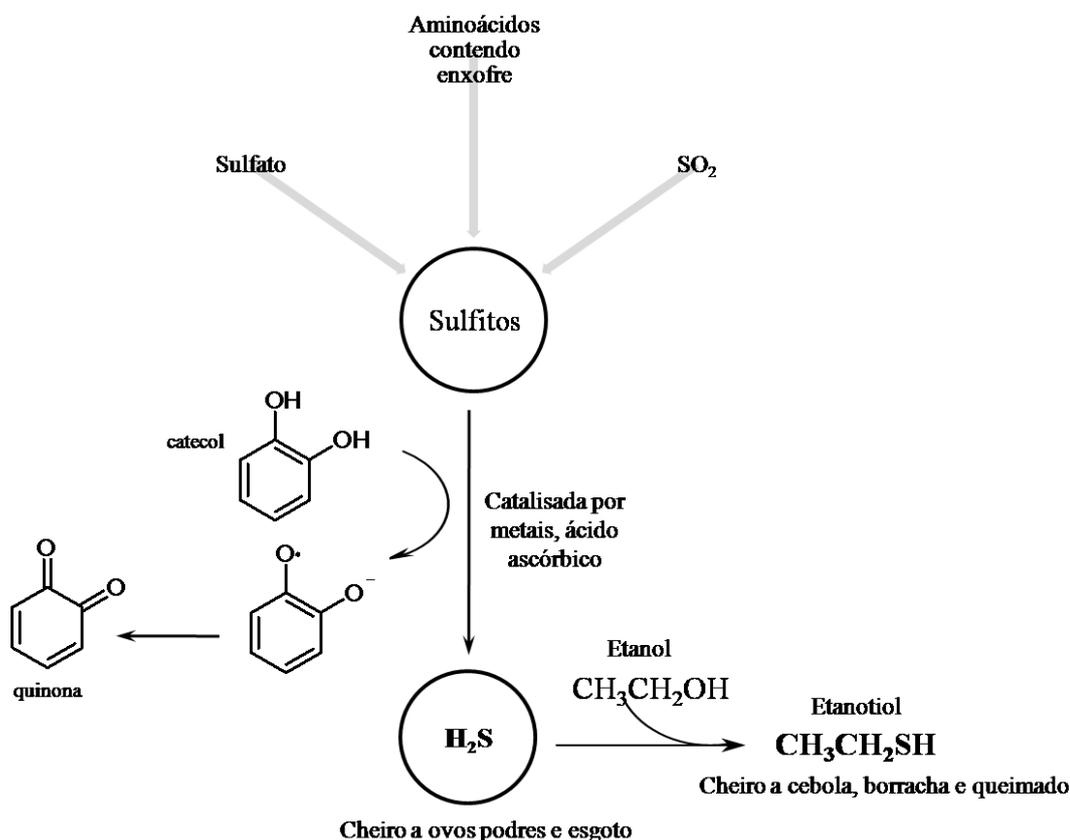


Figura 2.6 - Sistematização de uma das hipóteses dos mecanismos responsáveis pela redução de um vinho e efeitos sensoriais provocados.

Assim, a influência do oxigénio quer por excesso, quer por defeito, vai ter influência direta na qualidade de um vinho e, segundo dados obtidos no *International Wine Challenge* [44], os defeitos relacionados com oxidação e redução são bastante prevalentes (Tabela 1.1).

**Tabela 1.1 - Incidência dos defeitos encontrados no *International Wine Challenge*.**

<b>Descrição dos defeitos</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>
<b>Defeitos totais (%)</b>	7,1	6,1	5,9	7,3	5,6
<b>Relacionados com TCA</b>	27,8	29,7	31,1	25,7	20,9
<b>Oxidação</b>	<b>24,3</b>	<b>22,9</b>	<b>19,1</b>	<b>28,4</b>	<b>28,0</b>
<b>Redução</b>	<b>29,2</b>	<b>26,5</b>	<b>28,9</b>	<b>25,7</b>	<b>26,7</b>

Tanto a oxidação como a redução levam à perda de características distintivas dos vinhos e ao aparecimento de aromas e sabores desagradáveis: a oxidação leva ao acastanhamento (*browning*) e ao aparecimento de aromas/sabores a ranço, mel ou feno [50,53]. Por seu lado, a redução é associada à acumulação de compostos de enxofre, como sulfureto de hidrogénio (H<sub>2</sub>S) e à presença de aromas que são percecionados como ovos podres, esgoto e borracha [49].

#### **1.4.2. Oxigenação de uma garrafa de vinho**

A quantidade de oxigénio e etapa do processo de vinificação em que é introduzido, é um fator fundamental no correto desenvolvimento dos vinhos [55]. Durante a produção de vinho, existem etapas em que a captação de oxigénio é mais suscetível de ocorrer, nomeadamente: nas operações de trasfega, no estágio em barril de madeira, na filtração, no processo de engarrafamento e na maturação posterior em garrafa [54].

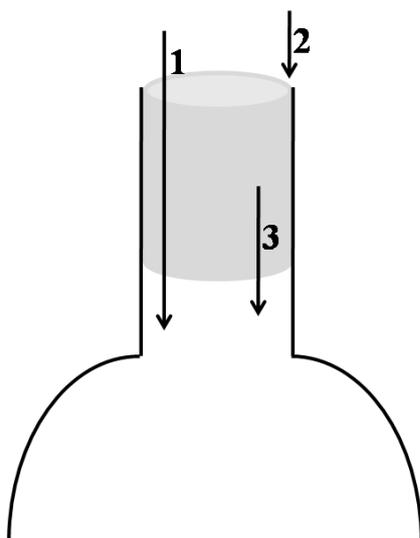
Durante o engarrafamento, o facto de haver a mudança do vinho de um recipiente fechado para outro, promove o contacto com o ar, levando a uma oxigenação mais exacerbada. Ainda assim, o próprio processo de engarrafamento já foi sendo otimizado de modo a originar uma menor absorção de oxigénio por parte do vinho: quer pelo uso de gases inertes, como o azoto (N<sub>2</sub>), quer pelo uso de sistemas de engarrafamento a vácuo [56].

Após o engarrafamento e, caso tenham sido usados sistemas para diminuir a entrada de oxigénio, a etapa de maturação em garrafa e a entrada de oxigénio que aí ocorra tornam-se ainda mais importantes. Tendo em conta as possíveis formas de entrada de oxigénio nesta etapa, os vedantes utilizados têm sido alvo de vários estudos que visam obter informação sobre o impacto

que diferentes vedantes (que implicam diferentes taxas de transferência de oxigénio, OTR) têm na maturação do vinho em garrafa [54,56,57].

Existem então 3 formas possíveis de entrada de ar numa garrafa já selada (Figura 2.7):

- Oxigénio que se difunde através do vedante (1);
- Oxigénio que passa através da *interface* vedante-vidro (2);
- Oxigénio que sai da rolha para a garrafa por compressão (ocorre em rolhas de cortiça devido ao “ar” contido nas células) (3).



**Figura 2.7 - Fontes de entrada de O<sub>2</sub> após o engarrafamento.**

Apesar de todas estas fontes de entrada poderem influenciar o contacto dos vinhos com oxigénio, relativamente às rolhas de cortiça, a mais relevante é a entrada resultante de compressão sendo que, as outras fontes podem ser consideradas desprezáveis ao longo do tempo [57].

Durante o engarrafamento, a rolha é comprimida a fim de ser inserida no gargalo e, essa compressão vai fazer aumentar a pressão interna ( $P_i$ ), variando entre 0,6 e 0,9 MPa [58]. Deste modo, pela diferença de pressão, vai ser reduzida a passagem de ar/oxigénio quer através da difusão pelo vedante, quer através da *interface* vedante-vidro [57]. Este aumento de pressão interna vai forçar o ar contido nas células de cortiça a sair da rolha, em especial nos primeiros 12 meses, (Fase 1, Figura 2.8) [57]. Com a saída do ar contido nas células e, a consequente, diminuição da pressão interna, é ainda possível que comece a ocorrer entrada de pequenas quantidades de oxigénio pela *interface* vedante-vidro (Fase 2, Figura 2.8) [57]. A difusão de oxigénio através da rolha de cortiça é ainda menos significativa devido à baixa permeabilidade da cortiça a líquidos e gases.

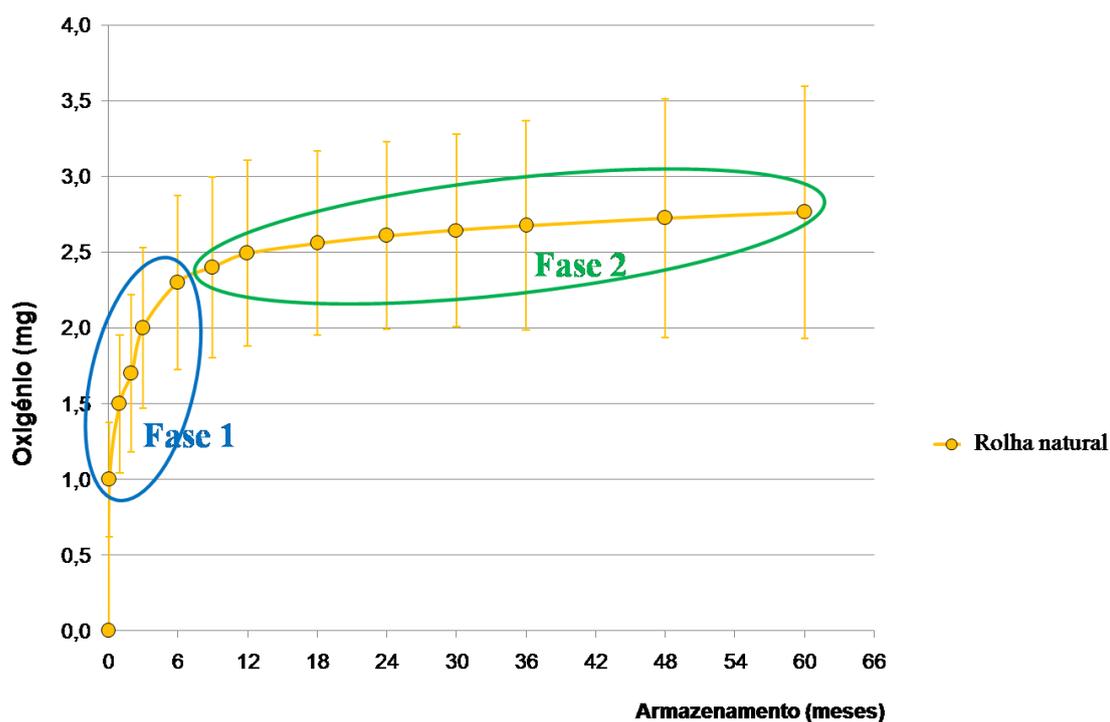


Figura 2.8 – Variação da entrada de oxigênio através de uma rolha natural, adaptado de Lopes *et al.* [59].

As rolhas de cortiça “técnicas” (como Neutrocork®) apresentam um perfil de entrada de oxigênio muito aproximado ao das rolhas naturais (ilustrado na Figura 2.8) mas apresentam uma OTR mais baixa [57]. Esta menor entrada de oxigênio pode dever-se ao processo de produção destas rolhas, cujo corpo aglomerado é constituído por granulado de cortiça, o qual já não apresenta nem a mesma organização nem a mesma estrutura alveolar íntegra, tão característica das células constituintes da cortiça.

Além das rolhas de cortiça, os vedantes mais relevantes e mais estudados são: as cápsulas de rosca (como Stelvin®, Figura 2.9 A) e os vedantes sintéticos (como Nomacorc®, Figura 2.9 B) [54,56,57].



Figura 2.9 - Vedantes alternativos existentes: A - Cápsula de rosca [60]; B - Vedantes sintéticos [61].

Os vedantes sintéticos surgiram no mercado como uma alternativa às rolhas de cortiça [49]. O facto de a cortiça ser um produto natural, cujas características intrínsecas são mais difíceis de padronizar, abriu espaço à criação de novos vedantes, também com o intuito de seguir as novas tendências de mercado, como o uso de produtos tecnologicamente mais avançados [49]. Além disso, o desenvolvimento da indústria vitivinícola em países como a Austrália, África do Sul e Estados Unidos da América, originou a oportunidade para a criação de novos vedantes, como forma de combater os custos de transporte das rolhas de cortiça, dos países produtores para estes novos mercados [49].

O início da utilização dos vedantes sintéticos levantou um série de novos problemas, pela dificuldade de extração da garrafa, pelo aparecimento de aromas/sabores indesejados e, por se revelarem uma barreira muito pouco eficaz à difusão de gases [49]. Apesar das melhorias já conseguidas, ao ponto de se mostrarem capazes de preservar as propriedades de um vinho durante um armazenamento de aproximadamente 2 anos [49], os vedantes sintéticos ainda apresentam desvantagens significativas no que toca à OTR pois permitem uma difusão quase contínua do oxigénio, como se pode verificar pela variação ilustrada na Figura 3.0.

As cápsulas de alumínio são um tipo de vedante mais recente que, ao invés de ocupar o gargalo (como as rolhas e os vedantes sintéticos), cria uma barreira em todo o seu rebordo, originando assim uma vedação mais eficaz [49].

O principal mercado das cápsulas de alumínio está situado na Oceânia, onde se afirmaram como o vedante preferencial dos vinhos brancos australianos e neozelandeses [41]. Este facto deve-se, em especial, à baixa OTR que estes vedantes asseguram (Figura 3.0), pela quase hermeticidade que originam, o que é bastante vantajoso em vinhos brancos, pouco tolerantes ao contacto com oxigénio [49,54]. Assim, o uso de cápsulas de alumínio permite conservar a frescura característica dos vinhos, durante o envelhecimento em garrafa, e evitar fenómenos como o *browning* e o aparecimento de aromas/sabores indicativos de oxidação [49].

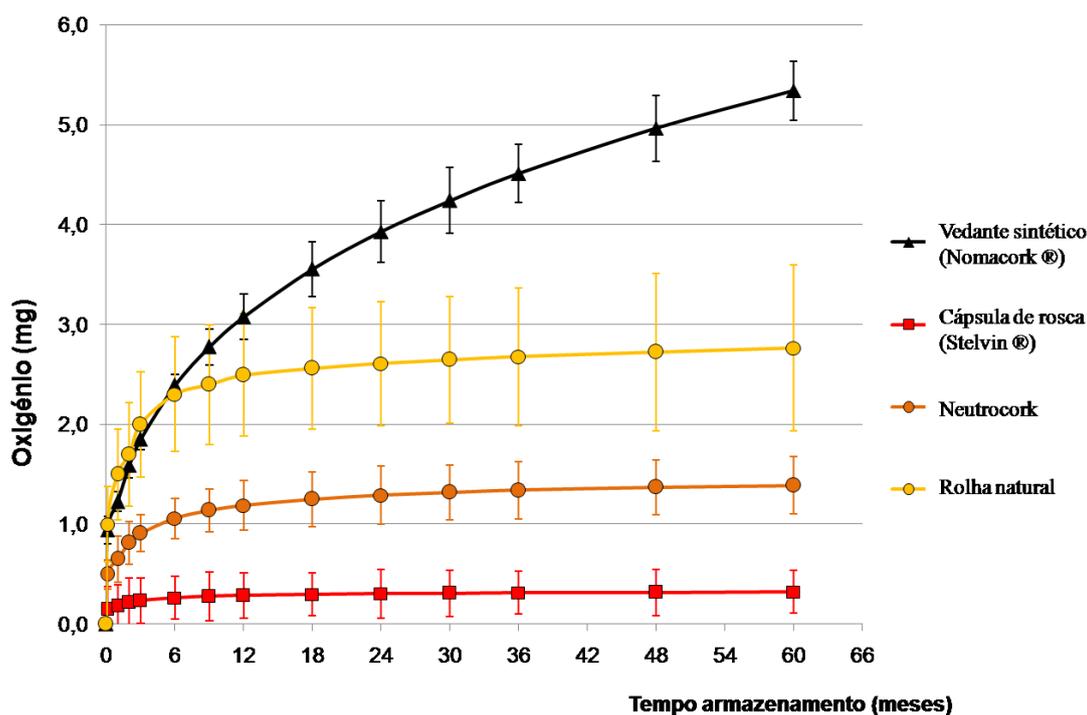


Figura 3.0 -Variação da entrada de oxigênio através de diferentes vedantes, adaptado de Lopes *et al.*[59].

### 1.4.3. Consequências do oxigênio

Os vários estudos realizados para avaliar a entrada de oxigênio através de diferentes vedantes também tentaram perceber o efeito dessa entrada em vários compostos presentes nos vinhos, em especial os mais significativos para as características sensoriais.

Em 2009, num estudo com *Sauvignon*, Lopes *et al.* demonstraram a influência do excesso de oxigênio no desenvolvimento de aromas e sabores de oxidação, levando à perda de frescura e dos atributos frutados característicos dos vinhos em causa. Este estudo conseguiu demonstrar a perda, quer de ácido ascórbico, quer de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), dois compostos com capacidade antioxidante presentes nos vinhos. Apesar de (sensorialmente) pouco significativa, esta diminuição de compostos antioxidantes pode ter outras repercussões, como afetar o teor de tióis voláteis, nomeadamente o 3-Mercapto-hexan-1-ol (3MH) e o Acetato de 3-Mercapto-hexilo (3MHA), responsáveis pelos aromas distintos a fruta, como maracujá e toranja com uma grande influência nas características organoléticas dos vinhos brancos *Sauvignon* [62]. A menor concentração de tióis foi encontrada em vinhos mais expostos ao oxigênio [63], onde as concentrações de ácido ascórbico e de SO<sub>2</sub> e, conseqüente, poder antioxidante eram mais baixos [54], o que corrobora a tese de que serão as quinonas (formadas pela reação do catecol e derivados com o oxigênio) a

reagir com estes compostos, levando à perda de aromas/sabores característicos dos vinhos em causa.

Mais, Lopes *et al.* [54] demonstraram o efeito do contacto insuficiente com o oxigénio na perda de frescura e atributos frutados, e a sua influência no desenvolvimento de aromas característicos de redução. Este estudo conseguiu ainda demonstrar a relação existente entre os níveis de sulfureto de hidrogénio (H<sub>2</sub>S) e os defeitos de redução. Os níveis de H<sub>2</sub>S são mais elevados nos vinhos cujos vedantes permitem menor OTR (como as cápsulas de alumínio), enquanto outros vedantes, mais permeáveis ao oxigénio, apresentam valores muito inferiores. Além disso, os níveis de H<sub>2</sub>S encontrados nos vinhos selados com vedantes com uma OTR mais baixa (como as cápsulas de alumínio) são muito próximos dos teores encontrados em vinhos que demonstram sinais de redução [54], o que corrobora com a tese de serem os compostos de enxofre (como o H<sub>2</sub>S e, conseqüentemente, o etanotiol) os responsáveis pelos atributos reduzidos [49].

Deste modo, os estudos sobre a influência dos vedantes na OTR e o seu efeito nos vinhos, tem mostrado que a cortiça é o vedante que permite um desenvolvimento mais harmonioso e equilibrado dos vinhos em garrafa [54,56,57].

Assim sendo, é possível afirmar que seria vantajoso a existência de uma rolha de cortiça (natural ou técnica), com uma OTR que fosse passível de ser controlada (dentro de uma gama pré-definida), de forma a permitir satisfazer as exigências de cada cliente e, verdadeiramente, produzir um tipo de rolha associado a cada tipo de vinho.

#### **1.4.4. Scavengers de oxigénio**

Uma forma de obter rolhas com OTR adequado a cada tipo de vinho pode passar pelo uso de *scavengers* de oxigénio, adicionados (durante a produção de rolhas técnicas) como um componente, juntamente com o granulado de cortiça e o aglomerante.

Apesar de não serem utilizados e a literatura sobre a sua adição a rolhas de cortiça ser praticamente inexistente, os *scavengers* de oxigénio têm já alguma popularidade e expressão na área das embalagens alimentares, em especial nas embalagens ativas e nos alimentos que requerem atmosferas controladas [64]. Assim, o papel dos *scavengers* na proteção e conservação de alimentos pode ser transposto para o caso do vinho: numa embalagem com um alimento, o papel do *scavenger* presente na embalagem é proteger da ação direta do oxigénio e impedir a proliferação microbiana [64]. No caso do vinho e apesar da proliferação microbiana não estar em causa, trata-se de proteger o produto da ação do oxigénio e impedir o degradar das suas propriedades organolépticas.

Os primeiros desenvolvimentos relacionados com os *scavengers* de oxigénio datam do início do século 20, pela necessidade da indústria das embalagens alimentares ter produtos capazes

de remover o oxigénio existente nas embalagens [65]. Os primeiros sistemas de *scavenging* faziam uso de compostos metálicos, como o ferro, zinco ou manganésio, originando-se assim as primeiras patentes [65]. Nos anos 40 ocorreram vários desenvolvimentos nesta área, em especial no Reino Unido e nos Estados Unidos da América, potenciados pela necessidade de fornecer rações de combate militares melhores e com maior prazo de validade [65]. Em todo o caso, o primeiro *scavenger* comercial só surgiu em 1977, como uma saqueta destinada a produtos alimentares armazenados em embalagens de maiores dimensões e, conseqüentemente com um maior volume livre [65]. Com o sucesso alcançado, o desenvolvimento de novos sistemas de *scavenging* de oxigénio teve uma grande expansão, aumentando a sua popularidade e permitindo-lhes chegar até aos dias de hoje, com especial utilidade em embalagens de alimentos com atmosfera controlada.

Atualmente podem ser encontrados diversos tipos de sistemas de *scavenging* de oxigénio, desde compostos metálicos a não metálicos, como ácidos orgânicos, ácidos gordos e até enzimas [66]. Os sistemas metálicos são os mais antigos e, ao mesmo tempo, os mais populares e com maior expressão, normalmente na forma de saquetas e contendo agentes redutores como carbonato e óxido de ferro (usualmente em pó) [66]. Estes sistemas requerem exposição ao ar para que a reação possa ocorrer e, por norma, requerem que haja absorção de alguma da humidade do alimento. Assim, se forem mantidos secos, mesmo que haja exposição da saqueta ao ar, a reação não irá ocorrer [66]. Os únicos inconvenientes destes sistemas prendem-se com a opinião dos consumidores quanto à presença de compostos metálicos em contacto com alimentos e a possibilidade de ingestão do conteúdo das saquetas. Em todo o caso, tendo em conta que, por exemplo, a dose letal ( $LD_{50}$ ) do ferro é de 16g/kg massa corporal, a quantidade utilizada nas saquetas é centenas de vezes inferior à dose letal [66], o que lhes permitiu serem aprovados pela Food & Drug Administration (FDA).

Outro tipo de sistemas de *scavenging* faz uso de, por exemplo ácido ascórbico. As reações que permitem a oxidação do ácido ascórbico são lentas, havendo a necessidade de as acelerar, por exemplo, utilizando um metal de transição (como o cobre ou cobalto) como catalisador [65,66]. Este tipo de sistemas é utilizado, essencialmente, como filmes ativos, havendo até soluções comerciais que fazem uso da água do alimento para ativar a reação, sendo por isso especialmente indicados para alimentos na forma aquosa [66].

Um outro tipo de sistema passa pelo uso de enzimas ou reações acopladas [65,66]. Estes sistemas funcionam a partir do consumo de um substrato, sendo que a reação principal utiliza oxigénio e a presença da reação acoplada serve para tornar a primeira reação termodinamicamente favorável ou para remover algum produto indesejado [66].

Os sistemas de *scavenging* que fazem uso de enzimas são bastante sensíveis pois dependem do pH e da atividade da água ( $a_w$ ) do meio, do teor em sais e da temperatura, fatores que afetam

estruturalmente as enzimas, podendo pôr em causa a reação e, conseqüentemente, o funcionamento do sistema [65,66]. Um bom exemplo deste tipo de sistemas é composto por glucose oxidase + catalase. A glucose oxidase vai promover a oxidação da glucose, que pode já estar presente ou ser adicionada com esse propósito, levando ao consumo de oxigénio; a catalase permite a eliminação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que é formado. Em todo o caso a sua presença também origina uma limitação, pois produz oxigénio, o que diminui o rendimento do sistema [66].

Recorrendo à adsorção ou encapsulação de enzimas, os sistemas enzimáticos permitem a sua inserção na própria estrutura da embalagem [66].

Todos os sistemas referidos requerem água, o que se traduz na impossibilidade da sua utilização em alimentos secos. Por esse motivo surgiu um outro tipo de sistema de *scavenging* que faz uso de ácidos gordos, em especial os ácidos poli-insaturados [66]. Estes sistemas usam preferencialmente os ácidos oleico, linoleico e linolénico, juntamente com um catalisador metálico [65]. Estes sistemas originam produtos como ácidos orgânicos, aldeídos e cetonas, que podem afetar a qualidade sensorial de alimento em que são utilizados [66].

Para a adição de *scavengers* a rolhas de cortiça há um outro fator a ter em conta, a compatibilidade com a cola/resina de poliuretano. Todos os *scavengers* até agora referidos seriam provavelmente segregados pela cola, pelo facto de apresentarem estruturas polares. Apesar de mais utilizados e conhecidos, *scavengers* como o ácido ascórbico provavelmente não irão ser funcionais na matriz apolar do poliuretano.

Deste modo, há a necessidade de recorrer a outros *scavengers* cuja estrutura que permite reagir com o oxigénio esteja integrada numa outra, tornando o composto apolar.

Neste trabalho foram usados vários *scavengers*, previamente selecionados com o intuito de testar a sua eficácia numa rolha de cortiça técnica (Figura 3.1): 3-(3,5-di-tert-butil-4-hidroxifenilo) propionato de octadecil (conhecido industrialmente por Irganox 1076, Ix); Tris(2,4-di-tert-butilfenil) fosfito (conhecido industrialmente por Irgafos 168, If); Octadecanamida (Oc); Tetradecanamida (Te) e Nonanamida (No).

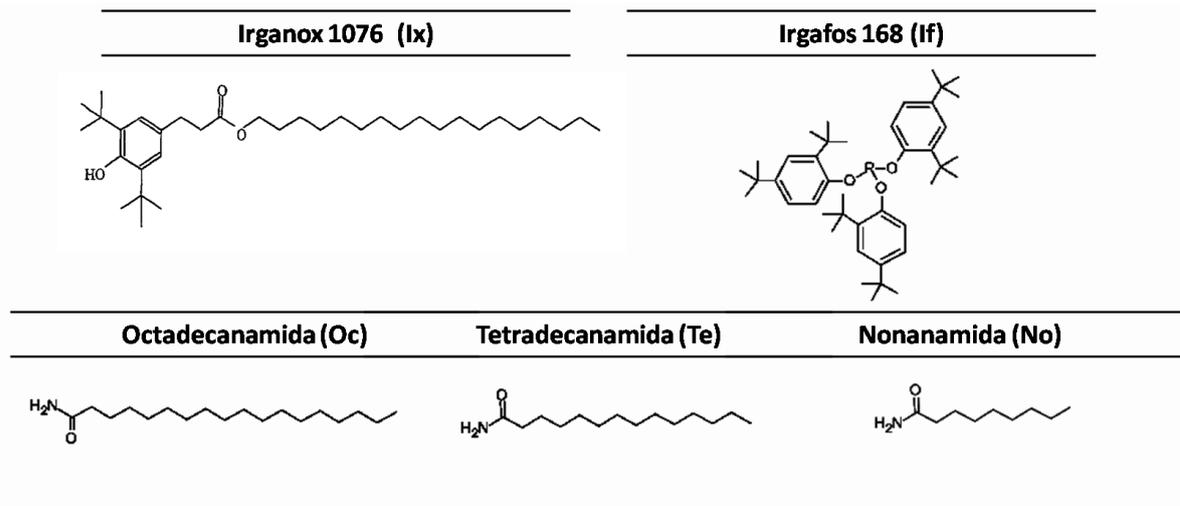


Figura 3.1 - Estruturas dos *scavengers* que foram incorporados nas rolhas (adaptadas de [67]).

#### 1.4.5. Medições de Oxigénio

A fim de perceber a potencialidade da cada *scavenger* foi usado o método de quimioluminescência [68], um método não invasivo que faz uso de sensores óticos que permitem medir a quantidade de oxigénio que entra na garrafa ao longo do tempo.

O princípio de funcionamento deste método baseia-se na dinâmica de excitação de luminescência pelo oxigénio molecular [68], sendo possível quantificar a concentração de oxigénio presente no interior da garrafa.

## **2. Objetivos do Trabalho**

O presente trabalho, desenvolvido na Amorim & Irmãos, S.A., teve como objetivo fundamental o desenvolvimento de rolhas de cortiça com transmissão controlada de oxigénio, com o intuito de encontrar uma formulação adequada, que permita a produção industrial de uma gama de rolhas com transmissão de oxigénio pré-definida.

Para tal, realizou-se um levantamento e revisão da literatura existente (secção anterior, Introdução), relativa aos efeitos e contributos do oxigénio durante o estágio em garrafa de um vinho e aos fatores que mais influenciam a entrada de oxigénio no mesmo, avaliando as formas de entrada e quais as mais relevantes no caso das rolhas de cortiça.

Seguir-se-á a descrição do trabalho experimental realizado, serão apresentados os resultados obtidos que seguidamente são discutidos. O presente trabalho termina com a conclusão e perspectivas futuras que os resultados permitiram abrir.

### 3. Materiais e Métodos

Os ensaios e as metodologias utilizados neste trabalho (esquemáticos nas Figura 3.2 e 3.3) seguem uma disposição cíclica, na medida em que, os resultados e as conclusões obtidas no primeiro ensaio servem de situação inicial para o segundo, permitindo adaptar a formulação.

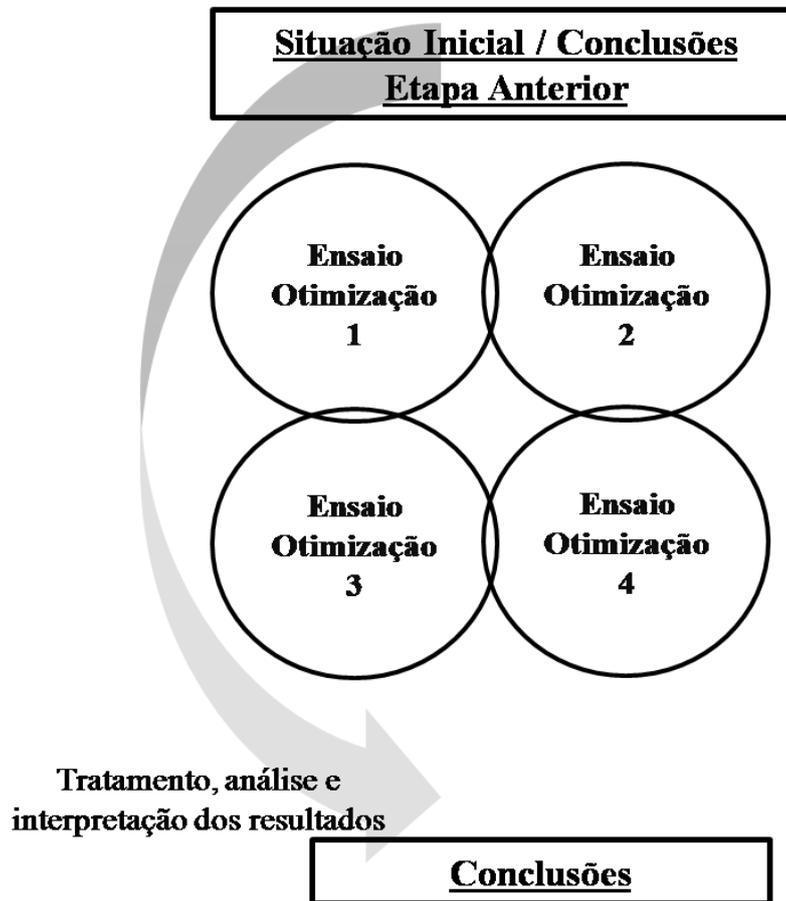
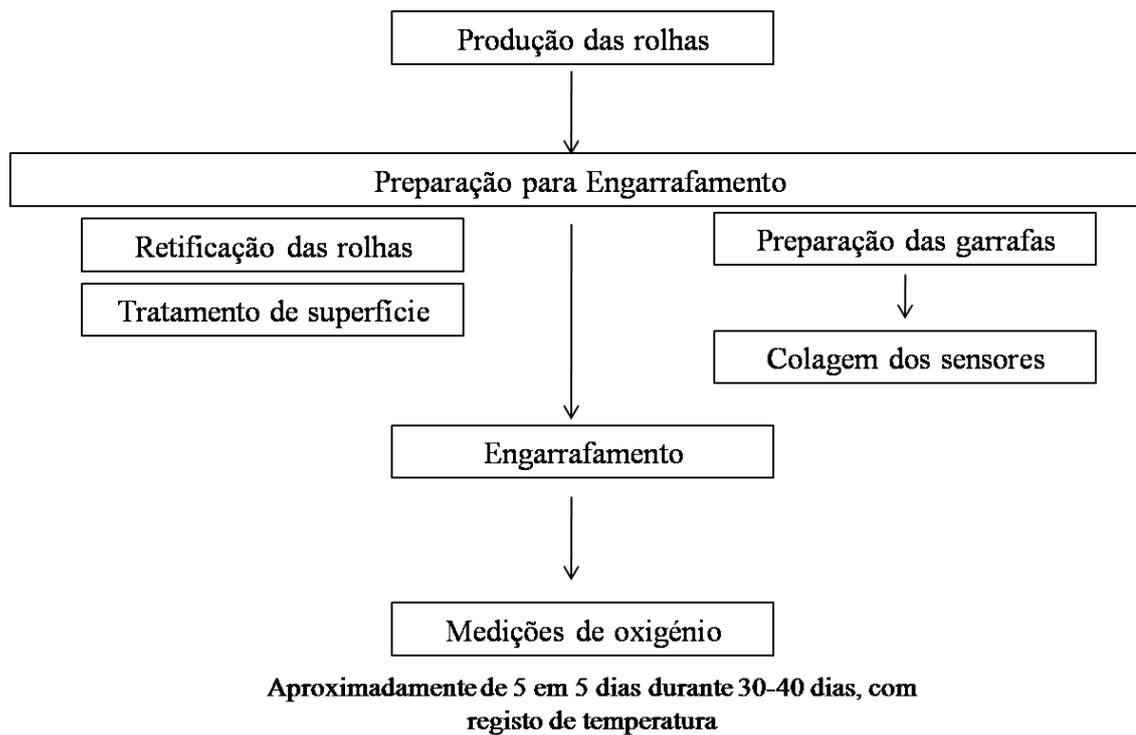


Figura 3.2 - Representação esquemática dos ensaios realizados.

Todos os ensaios realizados partilham das mesmas etapas experimentais e a descrição dos Materiais e Métodos seguirá a mesma disposição dessas etapas (ilustradas na Figura 3.3).



**Figura 3.3 - Etapas experimentais realizadas em cada um dos ensaios de produção de rolhas com *scavengers* de oxigénio.**

### **3.1. Produção de Rolhas**

A fim de testar várias formulações de rolhas com *scavengers* de O<sub>2</sub>, houve a necessidade de produzir essas mesmas rolhas. Para isso, foi utilizada a moldadora ilustrada na Figura 3.4.



**Figura 3.4 - Moldadora piloto utilizada na produção das rolhas contendo *scavengers* de oxigénio.**

O propósito desta moldadora é o de mimetizar, numa escala laboratorial, o processo de moldagem individual existente na produção industrial de rolhas técnicas, em especial rolhas Neutrocork®.

Sendo as rolhas técnicas formadas por granulado e cola, para a produção das rolhas contendo *scavengers* houve a necessidade de fazer uma mistura inicial: o granulado, dos mesmos lotes utilizados para a produção de rolhas Neutrocork®; a cola, BS 3010, produzida pela Resibras e os *scavengers* de oxigénio testados foram os mencionados na Introdução.

Durante a produção das rolhas na moldadora piloto foi convencionada uma formulação o mais próxima possível das condições utilizadas na produção industrial de rolhas Neutrocork®. Assim, as rolhas produzidas resultaram de uma mistura inicial de 100 g de granulado (71,4%), 34 g de cola (24,3%) e os restantes 6 g do *scavenger* de oxigénio a testar (4,3%). Apesar da existência de uma formulação base, durante o processo de otimização, as condições foram sendo adaptadas como ilustrado na Tabela 1.2. Após a pesagem, a mistura foi homogeneizada utilizando uma batedeira, durante cerca de 10 min. Logo após, procedeu-se ao enchimento do molde, contendo cada “rolha”

6,4 g da referida mistura. Depois da compressão pela moldadora, o molde contendo as rolhas foi colocado numa estufa a 140 °C durante 40 min. Após algum tempo para estabilização e arrefecimento, as rolhas são desmoldadas e deixadas a estabilizar pelo menos 36 h. Durante a produção das rolhas não houve controlo da temperatura ou pressão atmosférica.

Durante os ensaios de otimização foram utilizadas amostras testemunha/referência e 5 lotes de rolhas contendo *scavengers* de oxigénio. As rolhas testemunha foram, no primeiro ensaio, produzidas no molde piloto, utilizando a formulação anteriormente referida (excetuando os 4,3% de *scavenger*), de modo a poder comparar a sua OTR com a de rolhas Neutrocork® industriais. Nos restantes ensaios, as rolhas que serviram de OTR de referência para avaliar a potencialidade dos *scavengers* testados foram sempre rolhas Neutrocork® industriais. Foram feitas formulações de rolhas Neutrocork contendo diferentes *scavengers*, isolados ou em combinação, nomeadamente:

- Irganox (Ix);
- Irgafos (If);
- Octadecanamida (Oc);
- Irganox + Irgafos (Ix + If) em quantidades semelhantes;
- Octadecanamida + Nonanoamida + Tetradecanamida (Oc + No + Te) tendo o primeiro uma concentração 10 vezes superior à concentração dos outros dois que é igual entre si.

**Tabela 1.2 - Componentes e quantidades utilizadas na formulação de cada ensaio. \* No ensaio de duplicação, apenas foram utilizados a Nonanoamida (No) e a Tetradecanamida (Te).**

<u>Ensaio</u>	<u>Formulação das Rolhas</u>						
	Sem <i>Scavengers</i>	Contendo <i>Scavengers</i>					
	Testemunha	Ix	If	Ix + If	Oc	Oc + No + Te	
<b><u>Otimização 1</u></b>	Granulado (g)	100,09	100,10	100,20	100,22	100,20	100,04
	Cola (g)	39,90	34,43	35,48	35,90	36,16	35,68
	<i>Scavenger</i> (g)	-	6,00	6,04	3,05 + 3,07	6,04	5 + 0,48 + 0,52
<b><u>Otimização 2</u></b>	Granulado (g)	<b>Industrial</b>	100,02	100,32	100,54	100,24	99,95
	Cola (g)		35,17	34,15	34,14	34,27	34,27
	<i>Scavenger</i> (g)		6,02	6,04	3,12 + 3,07	6,09	5,05 + 0,50 + 0,49
<b><u>Otimização 3</u></b>	Granulado (g)	<b>Industrial</b>	100,26	100,41		99,97	100,14
	Cola (g)		30,89	29,79	<b>Lote não utilizado</b>	27,94	40,08
	<i>Scavenger</i> (g)		12,12	12,02		12,02	1,05 + 1,08 *
<b><u>Otimização 4</u></b>	Granulado (g)	<b>Industrial</b>	100,03	100,15	100,40		
	Cola (g)		34,10	34,60	35,00	<b>Lote não utilizado</b>	<b>Lote não utilizado</b>
	<i>Scavenger</i> (g)		5,97	6,01	3,18 + 3,00		

Pelo caráter cíclico dos ensaios de otimização, há que salientar algumas alterações nos lotes utilizados: no ensaio de Otimização 3, o lote contendo Ix + If não foi testado devido a um problema na preparação da amostra; nesse mesmo ensaio, o lote contendo Oc + No + Te conteve apenas No + Te (*scavengers* fornecidos na ordem das mg, e por isso só foram utilizadas 500 mg de cada um) numa concentração duplicada, de modo a tentar perceber qual a sua contribuição na capacidade de retenção de oxigénio que o lote Oc + No + Te apresentava. Por fim, no ensaio de Otimização 4 não foram utilizados os lotes contendo Oc devido aos resultados e às manchas brancas visíveis na rolha (secção seguinte, Análise e Discussão dos Resultados).

O ensaio de Otimização 1, pode ser subdividido em 2 experiências: a comparação de testemunhas, onde foram engarrafadas rolhas testemunha produzidas no molde piloto e rolhas Netrocork® industriais, com o intuito de tentar perceber se a utilização do molde piloto levava a uma grande diferença na OTR das rolhas produzidas e o ensaio propriamente dito, onde foram testados todos os *scavengers*, nas quantidades referidas na Tabela 1.2.

### 3.2. Preparação para Engarrafamento

Após produção, as rolhas foram retificadas para 38x24 mm de forma a apresentarem as medidas padrão das rolhas Neutrocork.

Seguidamente as rolhas sofreram tratamento de superfície (já referido na Introdução, Produção de rolhas naturais), com vista á sua lubrificação de modo a facilitar a inserção e posterior extração duma garrafa. Após alguns dias de estabilização e secagem, as rolhas estão prontas para a fase seguinte de engarrafamento.

Além da preparação prévia que é necessária fazer às rolhas, também as garrafas a utilizar precisaram se de ser dotadas do sensor que permite a deteção do oxigénio presente (Figura 3.5). Estes foram colados utilizando uma cola de silicone a, aproximadamente, 11 cm do fundo da garrafa. Após a sua colocação, as garrafas foram armazenadas e protegidas da incidência direta da luz.



Figura 3.5 - Pormenor do sensor colado no interior da garrafa num momento de medição de oxigénio.

### 3.3. Engarrafamento

O engarrafamento foi feito utilizando um rolhador semi-automático *Epsilon R/S* da *Bertolaso*, ilustrado na Figura 3.6. Previamente foi circulado azoto no interior de cada garrafa, de modo a

diminuir o oxigénio existente no seu interior. As garrafas foram então rolhadas, utilizando-se sempre 5 rolhas e 5 garrafas em cada lote, apenas contendo ar no seu interior e a concentração inicial de oxigénio foi medida imediatamente após o engarrafamento.



Figura 3.6 - Rolhador semi-automático utilizado.

### 3.4. Medições de Oxigénio

O equipamento utilizado é o *Fibox 3 LCD-trace* da *PreSens* (Figura 3.7). É utilizada uma fonte luminosa com uma frequência de 4,5 kHz, para iluminar o sensor e provocar a excitação do oxigénio molecular. É utilizada uma fibra ótica que é posicionada na parede exterior da garrafa, para que “contacte” com o sensor [68]. O sensor, *Oxygen Sensor Spot SP – PSt6*, também da *PreSens*, tem uma capacidade de medição ao oxigénio gasoso desde os 0 aos 41,4 hPa [69]. Para garantir o seu correto funcionamento há a necessidade de proteger os sensores da incidência direta da luz.



Figura 3.7 - Medidor utilizado para avaliar a entrada de oxigênio por quimioluminescência: A) fibra ótica; B) equipamento.

### 3.5. Taxa de Transferência de Oxigênio (OTR)

O *Fibox 3-LCD trace* fornece um valor de oxigênio em hPa. Fazendo uso da Lei dos Gases Ideais e da Molaridade obtém-se uma OTR em mg:

$$PV = nRT \rightarrow n = \frac{PV}{RT}$$

$$n = \frac{m}{MO_2}, \text{ juntando ambas obtém-se: } m = \frac{PV MO_2}{RT}$$

$$R = 0,08206 \text{ L.atm/K.mol} ; P = \text{atm} ; V = \text{L} ; T = \text{K} ; n = \text{mol}$$

$$1 \text{ atm} = 101300 \text{ Pa}$$

$$MO_2 = 32 \text{ g/mol}$$

Para este cálculo foi necessária a determinação do volume que seria ocupado pelo oxigênio dentro da garrafa. Para isso, foi utilizado o volume da garrafa (390 mL) e foi descontado o volume que seria ocupado pela rolha no gargalo. Assim, foi obtido um designado “volume útil”, constante em todas as medições.

Por fim há ainda que normalizar os resultados obtidos, de forma a avaliar a entrada de oxigênio da maneira mais correta (OTR Normalizado). Para isso há que descontar o valor inicial que foi registrado logo após o engarrafamento (Medição 0), o que permitirá avaliar apenas a entrada de oxigênio que ocorreu já com a garrafa fechada.

$$OTR \text{ Normalizada} = \text{mg } O_2 \text{ medição } N_{(1 \rightarrow \infty)} - \text{mg } O_2 \text{ medição } 0$$

Mais, foi calculado a Eficiência de Retenção de Oxigênio (ERO), de modo a medir a capacidade de diminuição da OTR de cada lote de *scavenger* utilizado:

$$(ERO) = \frac{OTR_{Testemunha} - OTR_{Scavenger}}{OTR_{Testemunha}}$$

Como em cada amostra foram engarrafadas 5 rolhas de cada lote, há a necessidade de calcular o respectivo desvio padrão:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

## 4. Análise e Discussão dos Resultados

### 4.1. Ensaio de Otimização 1

#### 4.1.1. Comparação de Testemunhas

Analisando os dados que originaram a Figura 3.8 (Anexo A1) podemos afirmar que as rolhas produzidas no molde piloto (Testemunha Molde Piloto) apresentam uma maior variabilidade na OTR em relação às produzidas industrialmente (Testemunha).

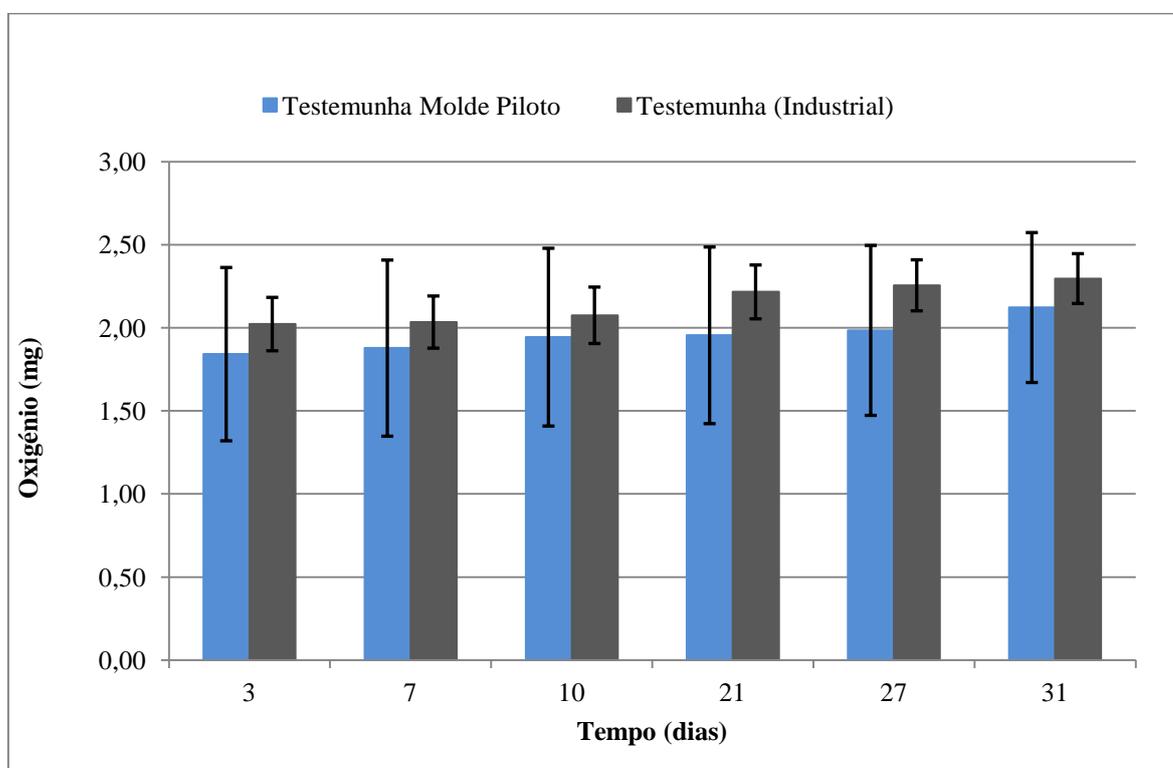


Figura 3.8 - Comparação dos resultados médios obtidos durante a medição da entrada de oxigênio nas amostras testemunha.

Esta variabilidade pode dever-se ao facto de, durante a produção das rolhas no molde piloto, a compactação não ser totalmente uniforme, levando a problemas de integridade e até porosidade nas rolhas. Esta variabilidade pode advir de impurezas de outros ensaios que tenham ficado retidas no molde e cuja limpeza não tenha sido capaz de remover.

#### 4.1.2. Ensaio de Otimização 1

O ensaio de Otimização 1 teve como objetivo obter os primeiros dados da capacidade de cada *scavenger* (ou mistura de *scavengers*) para diminuir a OTR das rolhas. Foram assim testados todos os 5 lotes de rolhas a que foram adicionados *scavengers* comparando-os com uma testemunha industrial.



**Figura 3.9 - Rolhas contendo Octadecanamida: grânulos do *scavenger* visíveis à superfície da rolha.**

Quanto ao aspeto visual das rolhas, os lotes de rolhas contendo Irganox (Ix), Irgafos (If) e Irganox + Irgafos (Ix+If) apresentaram-se uniformes e semelhantes ao da testemunha industrial. Por sua vez, os lotes de rolhas incorporados com Octadecanamida [o lote Octadecanamida (Oc) e o lote Octadecanamida + Nonanoamida + Tetradecanamida (Oc +No +Te)] mostraram uma aparência diferente, onde o granulado de cortiça surge misturado com partículas brancas de Octadecanamida não dispersas uniformemente (Figura 3.9). Isto evidencia uma ausência de distribuição homogênea através da rolha, afetando os resultados de retenção de oxigénio em toda a sua extensão e, ao mesmo tempo, levanta problemas de aspeto visual que podem afetar a entrada destas rolhas no mercado.

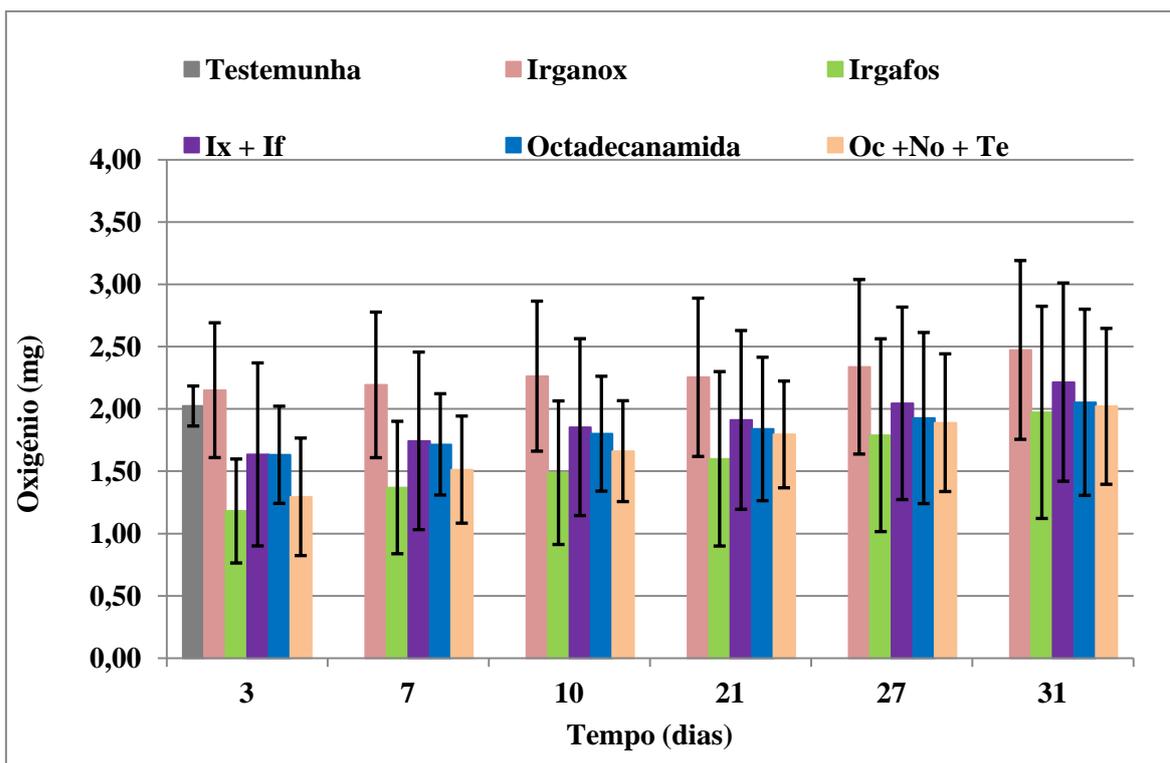


Figura 4.0 - Comparação dos resultados médios obtidos e respetivos desvios padrão durante a medição da OTR no ensaio de Otimização 1.

Observando a Figura 4.0 é possível verificar diferenças na entrada de oxigénio em função das diferentes rolhas usadas: comparando com a amostra referência (testemunha industrial) é possível verificar que, nas primeiras medições (3 e 7 dias), existem 3 lotes cuja OTR é inferior à da amostra de referência [Irgafos (If), Octadecanamida (Oc) e Oc +No +Te] e que a amostra contendo Irganox originou uma maior entrada de oxigénio. Relativamente ao lote contendo Ix + If e também em todos os lotes nas medições após 10 dias em garrafa, verifica-se a existência de grande variabilidade na retenção de oxigénio em cada ponto de análise.

O Irganox não demonstra efeito de retenção de oxigénio na matriz em que foi adicionado, seja pelo contacto com a cola, seja pelo granulado de cortiça ou pelo facto de ficar inserido numa estrutura que não lhe facilite o contacto com o oxigénio. A quantidade deste *scavenger* pode também não ter sido suficiente para reter o oxigénio libertado pela estrutura da cortiça.

Assim, tendo em conta a variabilidade que as amostras demonstram no Ensaio de Otimização 1, não é possível indicar inequivocamente que haja um qualquer lote de rolhas com *scavengers* que mostre uma redução significativa da OTR. Este facto pode advir quer da homogeneização da mistura, que pode não ter sido a mais correta, quer da variabilidade introduzida por impurezas presentes no molde piloto.

## 4.2. Ensaio de Otimização 2

O ensaio de Otimização 2 teve como objetivo a otimização dos resultados obtidos no ensaio anterior, tentando diminuir a variabilidade aí encontrada. Assim, o tempo de homogeneização da mistura foi duplicado, o *scavenger* foi adicionado misturado na cola, em vez de no granulado como no ensaio de Otimização 1 e o molde foi alvo de limpeza mais cuidada.

Foram testados os 5 lotes de rolhas com *scavengers* e comparados com uma testemunha industrial. Todas as rolhas testadas apresentam um aspeto uniforme, excetuando as que contém Octadecanamida.

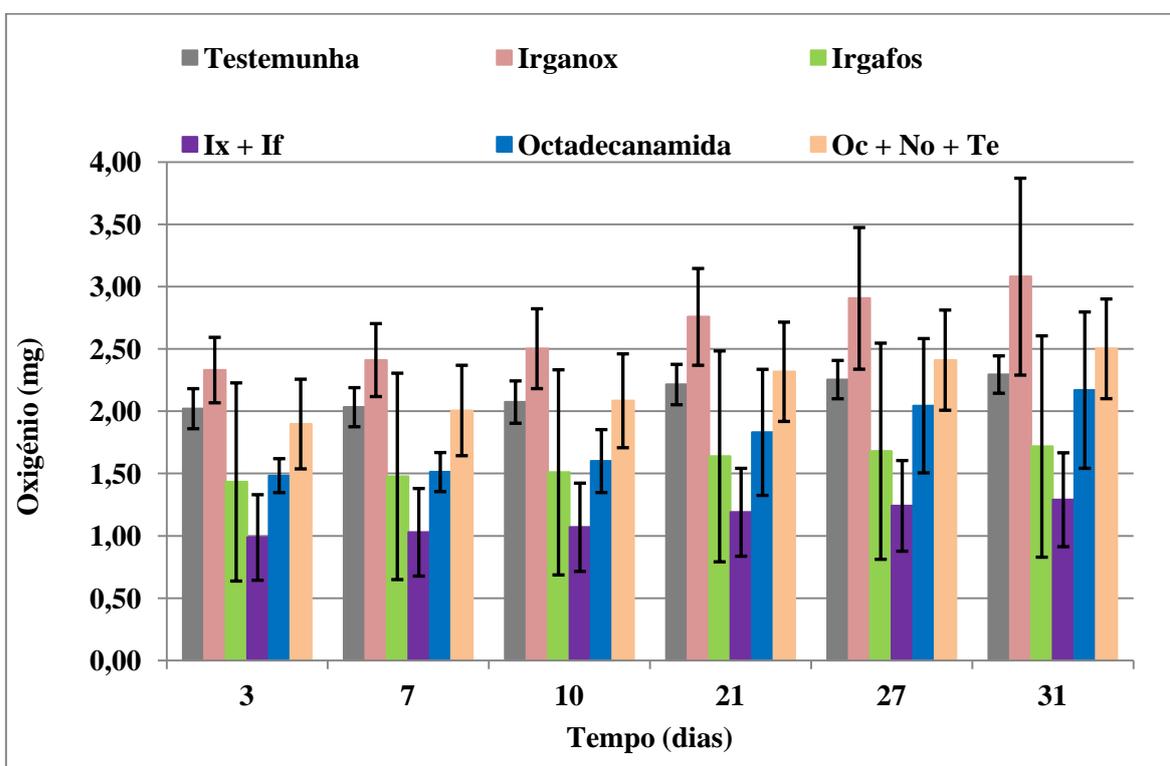


Figura 4.1- Comparação dos resultados médios obtidos e respetivos desvios padrão durante a medição da OTR no ensaio de Otimização 2.

O perfil de resultado obtido com alguns lotes de rolhas contendo *scavengers* sofreu alterações consideráveis em relação ao ensaio anterior (Figura 4.1). Nota-se uma menor variabilidade nos resultados, mesmo ao fim de 31 dias, à exceção dos obtidos com rolhas incorporadas com Irgafos. Há um lote que se sobressai de forma positiva neste ensaio, o lote de rolhas contendo Ix + If. (Tabela 1.3), na medida em que apresenta menor variabilidade mas acima de tudo mostra melhor retenção de oxigênio em relação aos restantes. O Irganox continua a ter um perfil desfavorável, a Octadecanamida continua a demonstrar uma pequena diminuição até aos 7 dias na retenção de

oxigénio e o Oc+No+Te não originou qualquer diminuição da OTR. O lote contendo o Irgafos mantém um perfil muito próximo do apresentado no ensaio de Otimização 1, pois apesar de apresentar um dos valores médios de OTR mais baixos, a variabilidade dos resultados é tão grande que não permite considera-lo inequivocamente vantajoso.

**Tabela 1.3 - Redução da OTR conseguida (ERO), em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 2.**

Amostra	ERO média (%)
Testemunha	-
Irganox	-23,71
Irgafos	25,10
If+Ix	47,31
Octadecanamida	-5,80
Oc+No+Te	-2,41

Analisando os resultados médios obtidos em cada lote, Irganox., Octadecanamida e Oc+No+Te apresentam um perfil desfavorável, originando um aumento de OTR em relação à testemunha (rolha Neutrocork® industrial).

O lote contendo Ix+If mostra-se promissor, conseguindo uma diminuição significativa da OTR, diminuição média de 47% (Tabela 1.3 e Anexo B1).

Relativamente ao lote de rolhas com Irgafos, avaliando apenas o seu resultado médio, vê-se uma redução de cerca de 25% (27% no ensaio de Otimização 1), oscilando desde os 29% nos primeiros dias após o engarrafamento, até aos 22% na marca de 1 mês (Anexo B1), contudo apresenta uma variabilidade muito alta.

Assim, no ensaio de Otimização 2, o lote contendo Ix+If demonstra uma redução muito significativa (na ordem dos 50%) da OTR, o que deixaria a OTR destas rolhas muito próxima daquela que é conseguida utilizando uma cápsula de rosca.

### 4.3. Ensaio de Otimização 3

O ensaio de Otimização 3 teve como objetivo avaliar se um aumento para o dobro na concentração de *scavengers* teria um significado igual na capacidade de retenção de oxigénio.

Como já foi referido na secção 3.1, no ensaio de Otimização 3, ao lote de rolhas contendo Oc+No+Te foi removida a Octadecanamida, a fim de tentar perceber o impacto dos restantes *scavengers*, originando assim um novo lote, No+Te. O lote de rolhas com Ix+If, devido a um problema na preparação das rolhas, não foi testado.

O aspeto visual das rolhas obtidas com todos os lotes foi uniforme, com exceção do contendo Octadecanamida que mantém as partículas brancas atrás descritas.

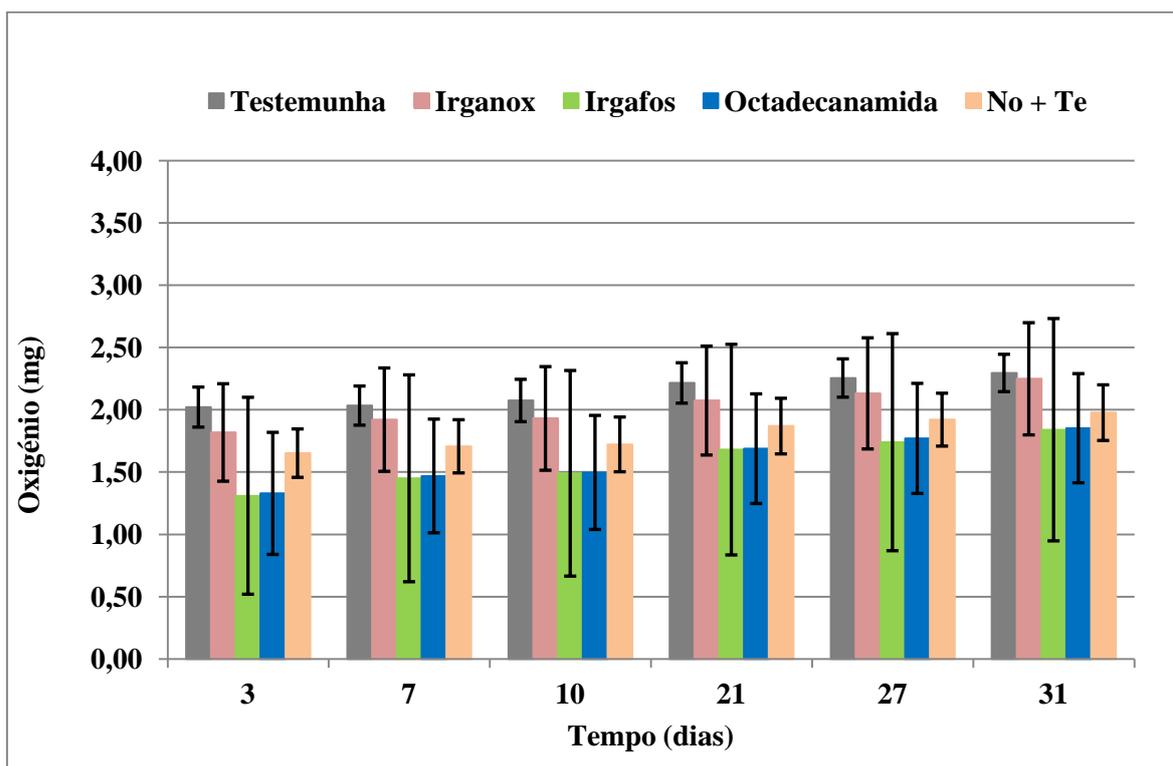


Figura 4.2 - Comparação dos resultados médios obtidos e respetivos desvios padrão, durante a medição da entrada de oxigénio no ensaio de Otimização 3.

Como se pode observar na Figura 4.2, apenas o lote contendo No+Te se pode afirmar como sendo favorável na redução da OTR (Tabela 1.4). O lote contendo Octadecanamida, demonstra

alguma diminuição da OTR até aos 21 dias. O lote de rolhas com Irgafos volta a demonstrar um valor médio bastante mais baixo que a Testemunha (sendo até o valor mais baixo dos *scavengers* testados) mas com uma grande variabilidade de resultados.

**Tabela 1.4 - Redução da OTR conseguida (ERO), em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 3.**

Amostra	ERO média (%)
Testemunha	-
Irganox	6,08
Irgafos	26,69
Octadecanamida	22,70
No+Te	18,88

Analisando apenas o valor médio obtido, o lote contendo Irganox já não apresenta um perfil desfavorável. Apesar de uma diminuição relativamente pequena, com uma média na ordem dos 6% e um máximo de diminuição de 10% (Anexo B2), pela primeira vez, a adição de Irganox a uma rolha de cortiça aglomerada permite alterar o perfil de entrada de oxigénio e melhorar a retenção deste por parte da rolha. Assim, com estes dados, podemos repensar a análise dos resultados anteriores, ou seja, talvez o facto de o Irganox não ser eficaz na diminuição da OTR nos ensaios anteriores possa ter sido por uma questão de concentração, indiciando que, muito provavelmente, os 4,3% de *scavenger* convencionados não são suficientes para reter o oxigénio que foi libertado pelas rolhas testadas.

O lote contendo No+Te apresenta um perfil favorável pois reduz a OTR em 20%. Estes resultados sugerem que a Octadecanamida não contribuía para a maior eficácia do efeito *scavenger* desta mistura.

A estratégia seguida neste ensaio de duplicação das concentrações dos *scavengers* não apresentou qualquer eficácia, pois não permitiu melhorar o efeito de retenção de oxigénio nas rolhas testadas

#### 4.4. Ensaio de Otimização 4

No ensaio de Otimização 4 apenas foram testados os lotes de *scavengers* que apresentaram melhores resultados nos ensaios anteriores: Irganox, Irgafos e Ix+If na concentração definida inicialmente, nomeadamente 4,3% de *scavenger*.

O aspeto visual de todas as rolhas utilizadas neste ensaio manteve-se uniforme.

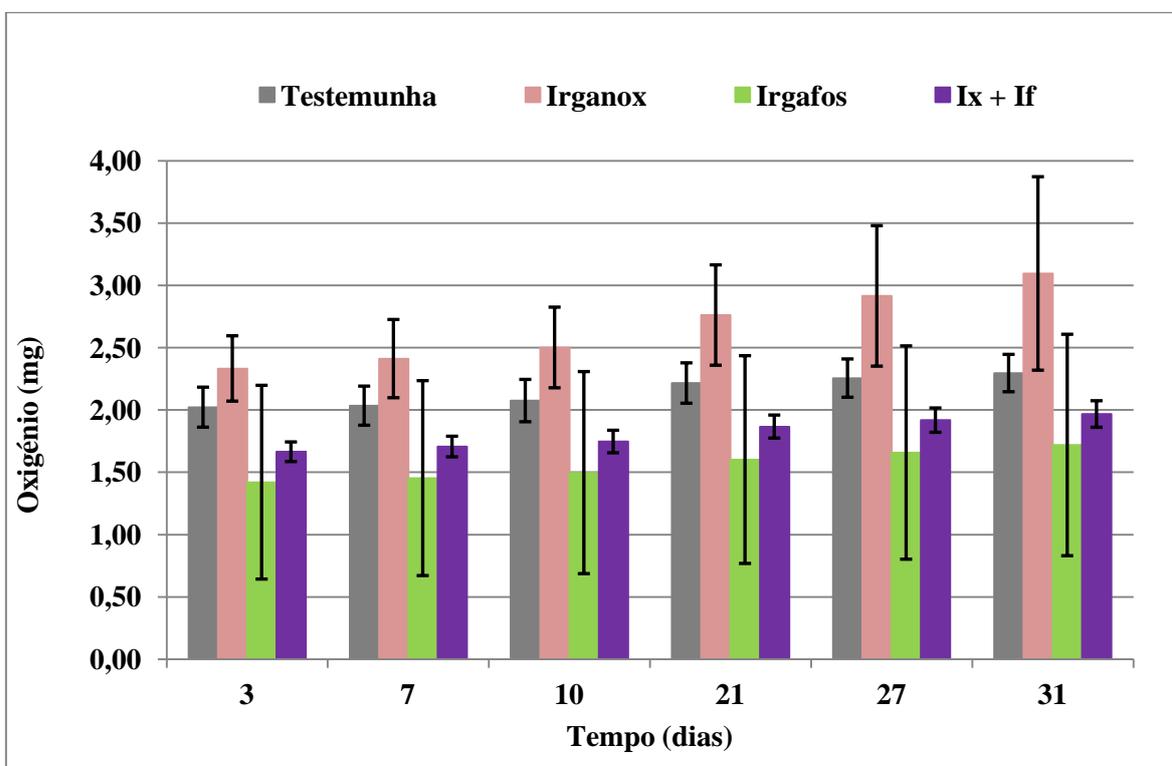


Figura 4.3 - Comparação dos resultados médios obtidos e respetivos desvios padrão, durante a medição da OTR no ensaio de Otimização 4.

Como é possível verificar na Figura 4.3 e Tabela 1.5, o perfil de redução da OTR é bastante próximo do obtido no ensaio 2: o Irganox continua a apresentar um perfil desfavorável facilitando, de alguma forma, a transferência de oxigénio da estrutura da cortiça para o interior da garrafa rolhada. O Ix+If continua como o lote de rolhas com maior capacidade de retenção de oxigénio na

rolha e, mais uma vez, o Irgafos não pode ser considerado devido à enorme variabilidade que apresenta.

**Tabela 1.5 - Redução da OTR conseguida (ERO), em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 4.**

Amostra	ERO média (%)
Testemunha	-
Irganox (Ix)	-23,83
Irgafos (If)	26,21
Ix + If	15,84

Os resultados obtidos neste ensaio são bastante próximos aos do ensaio 2, embora a capacidade de retenção de oxigénio do lote contendo Ix + If tenha sido menor. A diminuição da OTR foi de aproximadamente 16%, enquanto no ensaio 2 foi de 47%. O lote contendo Irganox mantém um perfil desfavorável e o Irgafos, apesar de apresentar o valor médio mais baixo das rolhas incorporadas com os 3 *scavengers* testados e manter uma redução na ordem dos 25% em todos os ensaios, volta a não poder ser considerado fruto da sua variabilidade.

## 5. Conclusões e Perpetivas de Trabalho Futuro

Durante a realização de cada um dos ensaios descritos foi possível retirar ilações que permitiram adaptar os ensaios seguintes, de modo a completar, o mais possível, o estudo da ação de *scavengers* na capacidade de retenção do oxigénio presentes no interior da rolha.

As principais conclusões obtidas são:

i) O molde piloto utilizado origina rolhas com maior variabilidade que o seu homólogo industrial, podendo originar variabilidade estrutural, quer na integridade quer na própria porosidade da rolha;

ii) Os lotes contendo o *scavenger* Octadecanamida (Octadecanamida (Oc) e Octadecanamida + Nonanoamida + Tetradecanamida (Oc+No+Te) têm pouca utilização, muito devido às manchas bem distintas que deixam na rolha, mas também pelo facto dessas partículas de maiores dimensões serem mais difíceis de homogeneizar na mistura, impedindo uma uniformidade na retenção do oxigénio;

iii) A duplicação da concentração de *scavenger* adicionado não originou uma duplicação na capacidade de retenção de oxigénio por parte das rolhas testadas;

iv) Os lotes de rolhas contendo Irganox, na concentração definida inicialmente, são insuficientes para a retenção do oxigénio e facilitam a sua libertação da estrutura da cortiça.

v) Os lotes contendo Ix + If apresentam-se como os mais favoráveis de entre os testados: as rolhas têm um aspeto uniforme e, embora a sua capacidade de retenção de oxigénio tenha sofrido uma variação significativa durante os ensaios (com uma diminuição da OTR entre os 16 e os 47%) este *scavenger* apresenta-se como o melhor ponto de partida para mais testes e trabalhos futuros;

vi) Por fim, as rolhas contendo Irgafos : apesar de em todos os ensaios demonstrarem uma boa diminuição da OTR (entre os 25 e os 27% relativamente aos valores médios obtidos), a enorme variabilidade de resultados (mesmo após as medidas que diminuíram essa mesma variabilidade nos outros casos) não permite considerar esses mesmos resultados válidos.

Relativamente a trabalhos futuros, em primeiro lugar, será necessária a repetição dos testes efetuados e novos testes com maior duração mas utilizando o molde de produção industrial de rolhas Neutrocork®, de modo a consolidar os resultados aqui apresentados, garantindo maior fiabilidade nas opções definitivas;

Será desejável a procura de novas formas de incorporação de *scavengers* nas rolhas, por exemplo, visando a sua acumulação à superfície, através de uma lavação ou de um tratamento de superfície. Desta forma abrir-se-iam novas perspetivas na criação de gamas de rolhas com OTR controlada, que pudessem servir diferentes vinhos e diferentes resistências à oxidação, utilizando apenas um tipo de incorporação, ou então mais do que um tipo de incorporação de *scavengers*,

nomeadamente à superfície e no interior das rolhas, originando assim diferentes capacidades de retenção de oxigénio.

Ao explorar novas formas de incorporação além da estudada (no interior das rolhas), é possível deixar de restringir estes ensaios apenas a rolhas técnicas e abranger um mercado de rolhas/vinhos muito maior, pela adição de *scavengers* de oxigénio a rolhas de cortiça natural e até a rolhas de champanhe.

Por fim, há uma questão fundamental a ter em conta, os ensaios de migração, que permitirão perceber se ocorre migração dos *scavengers* da rolha para o vinho. Se tal se verificar, há também necessidade de compreender quais as consequências, quer para o produto, quer para o consumidor.

## 6. Referências

1. Amorim & Irmãos, Manual de Acolhimento. 2015.
2. Amorim - <http://www.amorimcork.com/amorim-irmaos-cork-stoppers-business-unit/> - Consultado em Setembro 2016.
3. Amorim - <http://www.amorim.pt/corticeira-amorim/presenca-mundial/> - Consultado em Setembro 2016.
4. Amorim - <http://www.amorimcork.com/pt/products/catalogue/> - Consultado em Setembro 2016.
5. Silva SP, Sabino MA, Fernandes EM, Correlo VM, Boesel LF, Reis RL. Cork: properties, capabilities and applications. *Int Mater Rev.*2005; **50**(4):256–256.
6. Barberis A, Dettori S, Filigheddu M. Management problems in mediterranean cork oak forests: post-fire recovery. *J Arid Environ.*2003; **54**(3):565–569.
7. Amorim - <http://www.amorimcork.com/pt/natural-cork/sustainability-and-role-cork-oak-forest/> - Consultado em Setembro 2016.
8. Casey AJ. Is cork a good seal for wine? *Aust Grape Wine.* 1994;**37**:39–41.
9. Fortes MA, Rosa ME, Pereira H. The cellular structure of cork from *Quercus suber L.* *IAWA J.*1987; **8**(3):213–8.
10. Hooke R. Micrographia. London. The Royal Society. 1664.
11. Gibson LJ. Biomechanics of cellular solids. *J Biomech.* 2005; **38**(3):377–399.
12. Bernards MA. Demystifying suberin. *Can J Bot.* 2002; **80**(3):227-240.
13. Gandini A, Neto CP, Silvestre AJD. Suberin: a promising renewable resource for novel macromolecular materials. *Prog Polym Sci.* 2006; **31**(10):878–892.
14. Pereira, H. O que é a cortiça. Cortiça Suplemento ao Boletim Cortiça. Lisboa: Instituto dos Produtos Florestais; 1988.
15. Holloway PJ. The suberin composition of the cork layers from some ribes species. *Chem Phys Lipids.* 1972; **9**(2):171–179.
16. Fortes MA, Rosa ME, and Pereira H. A Cortiça. Lisboa. IST Press. 2004.

17. Marques AV. Isolation and structural characterization of cork lignin from *Quercus suber L.* Lisboa: Universidade Tecnica de Lisboa, Inst. Superior de Agronomia; 1998.
18. Pereira, H. Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber L.* *Wood Sci Technol.* 1988; **22**(3):211-218.
19. Asensio A. Structural studies of a hemicellulose B fraction from the cork of *Quercus suber.* *Carbohydr Res.* 1987; **165**(1):134-138.
20. Asensio A. Structural studies of the hemicellulose A from the cork of *Quercus suber.* *Carbohydr Res.* 1987; **16**(1):167-170.
21. Snakkers G, Nepveu G, Guilley E, Cantagrel R. Variabilités géographique, sylvicole et individuelle de la teneur en extractibles de chênes sessiles français (*Quercus petraea Liebl*) : polyphénols, octalactones et phénols volatils. *Ann For Sci.* 2000;**57**(3):251–260.
22. Moure A, Cruz JM, Franco D, Domínguez JM, Sineiro J, Domínguez H, *et al.* Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 2001; **72**(2):145–171.
23. Conde E, Cadahía E, García-Vallejo MC, Fernández de Simón B, González-Adrados JR. Low molecular weight polyphenols in cork of *Quercus suber.* *J Agric Food Chem.* 1997; **45**:2695-2700.
24. Santos SAO, Pinto PCRO, Silvestre AJD, and Neto CP. Chemical composition and antioxidant activity of phenolic extracts of cork from *Quercus suber L.* *Ind Crop Prod.* 2010; **31**(3): 521-526.
25. Conde E, Cadahía E, Garcia-Vallejo MC, González-Adrados JR. Chemical characterization of reproduction cork from Spanish *Quercus suber.* *J Wood Chem Technol.* 1998; **18**(4):447–469.
26. Chandler RF, Hooper SN. Friedelin and associated triterpenoids. *Phytochemistry.* 1979; **18**(5):711–724.
27. Kane VV, Stevenson R. Friedelin and related compounds. III the isolation of friedelane-2,3-dione from cork smoker wash solids. *J Org Chem.* 1960; **25**(8):1394–1396.
28. Graça J. Os tipos de cortiça e os produtos da sua transformação industrial. Lisboa: Departamento de Engenharia Florestal, Instituto Superior de Agronomia; 2002.
29. Amorim - <http://www.amorimcork.com/pt/natural-cork/raw-material-and-production->

- [process/](#) - Consultado em Setembro 2016.
30. Silva ME. Apontamentos de Tecnologia dos Produtos Florestais. Vila Real: UTAD; 2010.
  31. APCOR - <http://www.apcor.pt/cortica/processo-de-transformacao/descorticoamento/> - Consultado em Setembro 2016
  32. APCOR - <http://www.apcor.pt/cortica/processo-de-transformacao/percurso-industrial/rolhas-naturais/> - Consultado em Setembro 2016
  33. APCOR - <http://www.apcor.pt/cortica/processo-de-transformacao/percurso-industrial/rolhas-tecnicas/> - Consultado em Setembro 2016
  34. Amorim - <http://www.amorimcork.com/pt/products/catalogue/neutrocork/> - Consultado em Setembro 2016
  35. APCOR - <http://www.apcor.pt/cortica/processo-de-transformacao/percurso-industrial/aglomerado-puro-expandido/> - Consultado em Setembro 2016.
  36. Baptista APM, Vaz MC. Comparative wear testing of flooring materials. *Wear*. 1993; **162**:990-995.
  37. Pereira H, The thermochemical degradation of cork. *Wood Sci Technol*. 1992; **26**(4):259-269.
  38. INPI. A utilização e a valorização da propriedade industrial no sector da cortiça. Lisboa: INPI; 2005.
  39. APCOR. The natural choice: cork industry book. Lisboa: APCOR; 2006.
  40. Gil L. Cortiça: produção, tecnologia e aplicação. Lisboa: INETI; 1998.
  41. Amorim - <http://www.amorimcork.com/pt/products/catalogue/twin-top/> - Consultado em Setembro 2016.
  42. Amorim - <http://www.amorimcork.com/pt/products/catalogue/spark/> - Consultado em Setembro 2016.
  43. Amorim - <http://www.amorimcork.com/pt/products/quality-and-rd/> - Consultado em Setembro 2016.
  44. Goode J, Harrop S. Wine faults and their prevalence: data from the world's largest blind

- tasting. 16èmes Entretiens Scientifiques Lallemand, Horsens (2008).
45. Pereira CS, Marques JJF, San Romão M V. Cork taint in wine: scientific knowledge and public perception — a critical review. *Crit Rev Microbiol.* 2000; **26**(3):147–162.
  46. Rudy H. Off flavors in wine: Corky - Efficient and sensitive determination of TCA and other off-flavors. *GERSTEL Solutions Worldwide.* 2011; **11**:9-11.
  47. Pasteur L. Etudes sur le vin : ses maladies, causes qui les provoquent, procédés nouveaux pour les conserver et pour les vieillir. Paris: Imprimerie Royale; 1873.
  48. Atanasova V, Fulcrand H, Cheynier V, Moutounet M. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Anal Chim Acta.* 2002; **458**(1):15–27.
  49. Silva MA, Julien M, Jourdes M, Teissedre P-L. Impact of closures on wine post-bottling development: a review. *Eur Food Res Technol.* 2011; **233**(6):905–914.
  50. Escudero A, Asensio E, Cacho J, Ferreira V. Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chem.* 2002; **77**(3):325–331.
  51. Tominaga T, Murat M-L, Dubourdiou D. Development of a method for analyzing the volatile thiols involved in the characteristic aroma of wines made from *Vitis vinifera* L. Cv. sauvignon blanc. *J Agric Food Chem.* 1998; **46**(3):1044–1048.
  52. Simpson RF, Miller GC. Aroma composition of aged *Riesling* wine. *Vitis.* 1983; **22**:2251-2263.
  53. Silva Ferreira AC, Hogg T, Guedes De Pinho P. Identification of key odorants related to the typical aroma of oxidation-spoiled white wines. *J Agric Food Chem.* 2003; **51**(5):1377–1381.
  54. Lopes P, Silva MA, Pons A, Tominaga T, Lavigne V, Saucier C, *et al.* Impact of oxygen dissolved at bottling and transmitted through closures on the composition and sensory properties of a *Sauvignon* blanc wine during bottle storage. *J Agric Food Chem.* 2009; **57**(21):10261–10270.
  55. Godden P, Lattey K., Francis L, Gishen M, Cowey G, Holdstock M, *et al.* Towards offering wine to the consumer in optimal condition—the wine, the closures and other packaging variables: a review of AWRI research examining the changes that occur in wine after bottling. *Wine Ind J.* 2005; **20**(4): 20-30.

56. Lopes P, Saucier C, Teissedre P-L, Glories Y. Impact of storage position on oxygen ingress through different closures into wine Bottles. *J Agric Food Chem.* 2006 ; **54**(18):6741–6746.
57. Lopes P, Saucier C, Teissedre P-L, Glories Y. Main routes of oxygen ingress through different closures into wine bottles. *J Agric Food Chem.* 2007; **55**(13):5167–5170.
58. Casey JA. Closures for wine bottles—a user’s viewpoint. *Aust N Z Grapegrow Winemak.* 1989; **304**:99-107.
59. Lopes P, Saucier C, Glories Y. Nondestructive colorimetric method to determine the oxygen diffusion rate through closures used in winemaking. *J Agric Food Chem.* 2005; **53**(18):6967–6973.
60. Amcor - <https://www.amcor.com/CorporateSite/media/Old-Media/stelvinp-closure.png> - Consultado em Novembro 2016.
61. NOMACORC - [http://www.nomacorc.com/wp-content/uploads/2014/04/nomacorc\\_bamboo\\_reserva.png?x16104](http://www.nomacorc.com/wp-content/uploads/2014/04/nomacorc_bamboo_reserva.png?x16104) - Consultado em Novembro 2016.
62. Lund CM, Thompson MK, Benkwitz F, Wohler MW, Triggs CM, Gardner R, et al. New zealand *Sauvignon* blanc distinct flavor characteristics: sensory, chemical, and consumer aspects. *Am J Enol Vitic.* 2009; **60**(1):1–12.
63. Blanchard L, Darriet P, Dubourdieu D. Reactivity of 3-mercaptophexanol in red wine: impact of oxygen, phenolic fractions, and sulfur dioxide. *Am J Enol Vitic.* 2004; **55**(2):115–120.
64. P Fellows. Food processing technology – principles and practice. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2000.
65. Cooksey K. Oxygen scavenging packaging systems. Encyclopedia of Polymer Science and Technology. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2010.
66. Cichello SA. Oxygen absorbers in food preservation: a review. *J Food Sci Technol.* 2015; **52**(4):1889–1895.
67. Chemical Book - <http://www.chemicalbook.com/> - Consultado em Janeiro 2017.
68. Huber C, Nguyen TA, Krause C, Humele H, Stangelmayer, A. Oxygen ingress measurement into PET-bottles using optical-chemical sensor technology. *Mschr Brauwiss.* 2006; **52**:5-15.

69. PreSens Precision Sensing - <https://www.presens.de/products/detail/oxygen-sensor-spot-sp-pst6-yau.html> – Consultado em Abril 2017.

## Anexos

### A - Medições de Oxigénio

**Anexo A1 – Resultados médios obtidos da medição de oxigénio das amostras Testemunha (N=5 rolhas).**

	<b>Tempo (dias)</b>	<b>Temp ambiente (°C)</b>	<b>O2 "headspace" (hPa)</b>	<b>O2 "headspace" (mg)</b>	<b>OTR Normalizado (mg)</b>	<b>Desvio padrão (mg)</b>
<b>TESTEMUNHA</b>	0	19,2	2,16	1,07	0,00	0,000
	3	14,3	5,80	2,91	1,84	0,522
	7	14,1	5,87	2,95	1,88	0,530
	10	14,8	6,01	3,01	1,95	0,535
	21	14,9	6,04	3,03	1,96	0,531
	27	13,9	6,07	3,05	1,99	0,511
	31	14,1	6,35	3,19	2,12	0,451
<b>TESTEMUNHA INDUSTRIAL</b>	0	17,2	1,65	0,82	0,00	0,000
	3	15,4	5,68	2,84	2,02	0,161
	7	15,9	5,72	2,85	2,03	0,157
	10	17	5,82	2,90	2,07	0,170
	21	18,1	6,13	3,04	2,22	0,162
	27	18,1	6,21	3,08	2,25	0,154
	31	18,4	6,29	3,12	2,30	0,150

**Anexo A2 - Resultados médios obtidos da medição de oxigénio durante o ensaio de Otimização 1 (N=5 rolhas).**

	<b>Tempo (dias)</b>	<b>Temp ambiente (°C)</b>	<b>O2 "headspace" (hPa)</b>	<b>O2 "headspace" (mg)</b>	<b>OTR Normalizado (mg)</b>	<b>Desvio padrão (mg)</b>
<b>TESTEMUNH A</b>	0	17,2	1,65	0,82	0,00	0,000
	3	15,4	5,68	2,84	2,02	0,161
	7	15,9	5,72	2,85	2,03	0,157
	10	17,0	5,82	2,90	2,07	0,170
	21	18,1	6,13	3,04	2,22	0,162
	27	18,1	6,21	3,08	2,25	0,154
	31	18,4	6,29	3,12	2,30	0,150

<b>IRGANOX</b>	0	19,2	2,36	1,16	0,00	0,000
	3	14,3	6,59	3,31	2,15	0,541
	7	14,1	6,67	3,35	2,19	0,584
	10	14,8	6,83	3,42	2,26	0,602
	21	14,9	6,81	3,41	2,25	0,635
	27	13,9	6,95	3,50	2,34	0,700
	31	14,1	7,23	3,63	2,47	0,717

<b>IRGAFOS</b>	0	19,2	4,62	2,28	0,00	0,000
	3	14,3	6,89	3,46	1,18	0,417
	7	14,1	7,26	3,65	1,37	0,531
	10	14,8	7,52	3,77	1,49	0,576
	21	14,9	7,74	3,88	1,60	0,700
	27	13,9	8,09	4,07	1,79	0,774
	31	14,1	8,46	4,25	1,97	0,851

<b>Ix+If</b>	0	19,2	3,24	1,60	0,00	0,000
	3	14,3	6,44	3,23	1,63	0,734
	7	14,1	6,65	3,34	1,74	0,712
	10	14,8	6,89	3,45	1,85	0,710
	21	14,9	7,01	3,51	1,91	0,717
	27	13,9	7,25	3,64	2,04	0,772
	31	14,1	7,59	3,81	2,21	0,795

<b>OCTADECAN AMIDA</b>	0	19,2	2,79	1,38	0,00	0,000
	3	14,3	6,00	3,01	1,63	0,390
	7	14,1	6,16	3,09	1,71	0,407
	10	14,8	6,34	3,18	1,80	0,461
	21	14,9	6,42	3,22	1,84	0,576
	27	13,9	6,57	3,31	1,93	0,686
	31	14,1	6,83	3,43	2,05	0,747

<b>Oc+No+Te</b>	0	19,2	3,81	1,88	0,00	0,000
	3	14,3	6,32	3,17	1,29	0,471
	7	14,1	6,75	3,39	1,51	0,430
	10	14,8	7,06	3,54	1,66	0,405
	21	14,9	7,33	3,67	1,79	0,428
	27	13,9	7,49	3,77	1,89	0,553
	31	14,1	7,76	3,90	2,02	0,626

**Anexo A3 - Resultados médios obtidos da medição de oxigénio durante o ensaio de Otimização 2 (N=5 rolhas).**

	<b>Tempo (dias)</b>	<b>Temp ambiente (°C)</b>	<b>O2 "headspace" (hPa)</b>	<b>O2 "headspace" (mg)</b>	<b>OTR Normalizado (mg)</b>	<b>Desvio padrão (mg)</b>
<b>TESTEMUNHA</b>	0	17,2	1,65	0,82	0,00	0,000
	3	15,4	5,68	2,84	2,02	0,161
	7	15,9	5,72	2,85	2,03	0,157
	10	17	5,82	2,90	2,07	0,170
	21	18,1	6,13	3,04	2,22	0,162
	27	18,1	6,21	3,08	2,25	0,154
	31	18,4	6,29	3,12	2,30	0,150
<b>IRGANOX</b>	0	17,3	2,09	1,04	0,00	0,000
	3	15,4	6,74	3,37	2,33	0,263
	7	15,9	6,91	3,45	2,41	0,293
	10	17	7,12	3,54	2,50	0,320
	21	18,1	7,66	3,80	2,76	0,388
	27	18,1	7,96	3,95	2,91	0,568
	31	18,4	8,32	4,12	3,08	0,790
<b>IRGAFOS</b>	0	17,6	2,10	1,04	0,00	0,000
	3	15,4	6,18	2,47	1,43	0,795
	7	15,9	6,30	2,52	1,48	0,828
	10	17	6,41	2,55	1,51	0,823
	21	18,1	6,76	2,68	1,64	0,846
	27	18,1	6,86	2,72	1,68	0,867
	31	18,4	6,96	2,76	1,72	0,888

<b>Ix+If</b>	0	17,9	4,06	2,02	0,00	0,000
	3	15,4	6,00	3,00	0,98	0,343
	7	15,9	6,10	3,05	1,03	0,351
	10	17	6,20	3,09	1,07	0,354
	21	18,1	6,47	3,21	1,19	0,353
	27	18,1	6,57	3,26	1,24	0,364
	31	18,4	6,68	3,31	1,29	0,377

<b>OCTADECANA MIDA</b>	0	18,3	0,82	0,41	0,00	0,000
	3	15,4	6,31	1,89	1,48	0,136
	7	15,9	6,42	1,92	1,51	0,157
	10	17	6,74	2,01	1,60	0,252
	21	18,1	7,54	2,24	1,83	0,506
	27	13,9	8,14	2,46	2,05	0,539
	31	14,1	8,56	2,58	2,17	0,627

<b>Oc+No+Te</b>	0	18,6	3,27	1,62	0,00	0,000
	3	15,4	7,03	3,52	1,90	0,360
	7	15,9	7,26	3,63	2,01	0,363
	10	17	7,45	3,70	2,08	0,376
	21	18,1	7,94	3,94	2,32	0,398
	27	18,1	8,13	4,03	2,41	0,402
	31	18,4	8,32	4,12	2,50	0,400

**Anexo A4 - Resultados médios obtidos da medição de oxigénio durante o ensaio de Otimização 3 (N=5 rolhas).**

	<b>Tempo (dias)</b>	<b>Temp ambiente (°C)</b>	<b>O2 "headspace" (hPa)</b>	<b>O2 "headspace" (mg)</b>	<b>OTR Normalizado (mg)</b>	<b>Desvio padrão (mg)</b>
<b>TESTEMUNHA</b>	0	17,2	1,65	0,82	0,00	0,000
	3	15,4	5,68	2,84	2,02	0,161
	7	15,9	5,72	2,85	2,03	0,157
	10	17	5,82	2,90	2,07	0,170
	21	18,1	6,13	3,04	2,22	0,162
	27	18,1	6,21	3,08	2,25	0,154
	31	18,4	6,29	3,12	2,30	0,150
<b>IRGANOX</b>	0	18,1	2,04	1,01	0,00	0,000
	3	15,7	5,66	2,83	1,82	0,391
	7	15,7	5,86	2,93	1,92	0,415
	10	17,7	5,92	2,94	1,93	0,416
	21	18,1	6,22	3,08	2,07	0,437
	27	18,1	6,34	3,14	2,13	0,446
	31	14,1	6,48	3,26	2,25	0,450
<b>IRGAFOS</b>	0	17,6	2,39	1,19	0,00	0,000
	3	14,3	4,65	2,34	1,31	0,790
	7	14,1	4,93	2,48	1,45	0,830
	10	14,8	5,03	2,52	1,49	0,825
	21	14,9	5,40	2,71	1,68	0,845
	27	13,9	5,50	2,77	1,74	0,871
	31	14,1	5,70	2,86	1,81	0,892

**OCTADECANA  
MIDA**

0	18,9	2,42	1,20	0,00	0,000
3	15,7	6,33	2,53	1,33	0,490
7	15,7	6,68	2,67	1,47	0,456
10	17,7	6,79	2,70	1,50	0,458
21	18,1	7,28	2,89	1,69	0,440
27	18,1	7,49	2,97	1,77	0,442
31	18,4	7,71	3,05	1,85	0,438

**No+Te**

0	19	2,37	1,17	0,00	0,000
3	15,7	5,53	2,76	1,65	0,194
7	15,7	5,64	2,82	1,71	0,213
10	17,7	5,71	2,83	1,72	0,220
21	18,1	6,01	2,98	1,87	0,223
27	18,1	6,11	3,03	1,92	0,212
31	18,4	6,23	3,09	1,98	0,223

**Anexo A5 - Resultados médios obtidos da medição de oxigénio durante o ensaio de Otimização 4 (N=5 rolhas).**

	<b>Tempo (dias)</b>	<b>Temp ambiente (°C)</b>	<b>O2 "headspace" (hPa)</b>	<b>O2 "headspace" (mg)</b>	<b>OTR Normalizado (mg)</b>	<b>Desvio padrão (mg)</b>
<b>TESTEMUNHA</b>	0	17,2	1,65	0,82	0,00	0,000
	3	15,4	5,68	2,84	2,02	0,161
	7	15,9	5,72	2,85	2,03	0,157
	10	17	5,82	2,90	2,07	0,170
	21	18,1	6,13	3,04	2,22	0,162
	27	18,1	6,21	3,08	2,25	0,154
	31	18,4	6,29	3,12	2,30	0,150
<b>IRGANOX</b>	0	17,3	2,11	1,05	0,00	0,000
	3	15,4	6,76	3,38	2,33	0,262
	7	15,9	6,93	3,46	2,41	0,314
	10	17	7,14	3,55	2,50	0,324
	21	18,1	7,69	3,81	2,76	0,403
	27	18,1	8,00	3,96	2,91	0,564
	31	18,4	8,37	4,14	3,09	0,776
<b>IRGAFOS</b>	0	17,6	2,10	1,04	0,00	0,000
	3	15,4	6,15	2,46	1,42	0,777
	7	15,9	6,24	2,49	1,45	0,782
	10	17,0	6,37	2,54	1,50	0,811
	21	18,1	6,66	2,64	1,60	0,834
	27	18,1	6,80	2,70	1,66	0,856
	31	18,4	6,96	2,76	1,72	0,888

**Ix+If**

0	17,9	2,70	1,34	0,00	0,000
3	15,4	6,00	3,00	1,66	0,079
7	15,9	6,10	3,05	1,71	0,083
10	17,0	6,20	3,09	1,75	0,090
21	18,1	6,47	3,21	1,87	0,092
27	18,1	6,57	3,26	1,92	0,098
31	18,4	6,68	3,31	1,97	0,106

**B - Diminuição da OTR conseguida por cada amostra (ERO)**

**AnexoB1 - Redução da OTR conseguida, em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 1.**

Amostra	ERO (testemunha) (%)	ERO média (%)
Irganox	-	-5,85
	-6,13	
	-7,59	
	-8,85	
	-1,51	
	-3,47	
	-7,54	
Irgafos	-	27,47
	41,55	
	32,64	
	28,23	
	27,76	
	20,62	
	14,04	
Ix+If	-	11,86
	19,24	
	14,37	
	10,75	
	13,80	
	9,42	
	3,59	
Octadecanamida	-	14,87
	19,08	
	15,46	
	12,99	
	16,91	
	14,38	
	10,38	
Oc+No+Te	-	21,57
	36,10	
	25,75	
	20,06	
	19,09	
	16,33	
	12,09	

**AnexoB2 - Redução da OTR conseguida, em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 2.**

Amostra	ERO (testemunha) (%)	ERO média (%)
Irganox	-	-23,71
	-15,33	
	-18,59	
	-20,65	
	-24,51	
	-28,92	
Irgafos	-34,24	25,10
	-	
	29,08	
	26,76	
	26,26	
	23,71	
Ix+If	22,74	47,31
	22,05	
	-	
	51,12	
	39,36	
	48,42	
Octadecanamida	46,27	-5,80
	44,93	
	43,76	
	-	
	10,64	
	8,82	
Oc+No+Te	3,53	-2,41
	-7,68	
	-21,59	
	-28,52	
	-	
	5,95	
	1,16	
	-0,64	
	-7,05	
	-9,13	
	-9,14	

**AnexoB3 - Redução da OTR conseguida, em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 3.**

Amostra	ERO (testemunha) (%)	ERO média (%)
Irganox	-	6,08
	10,08	
	5,55	
	6,95	
	6,37	
	5,47	
	2,03	
Irgafos	-	26,69
	35,19	
	28,69	
	28,17	
	24,15	
	22,83	
Octadecanamida	-	22,70
	32,28	
	26,06	
	25,82	
	19,77	
	16,62	
Oc+No+Te	-	18,88
	21,40	
	19,17	
	20,02	
	18,47	
	17,62	
	16,62	

**AnexoB4 - Redução da OTR conseguida, em comparação com a amostra testemunha, no ensaio de Otimização 4.**

Amostra	ERO (testemunha) (%)	ERO médio (%)
Irganox	-	-23,83
	-15,34	
	-18,54	
	-20,51	
	-24,60	
	-29,22	
Irgafos	-	26,21
	29,95	
	28,35	
	27,10	
	25,84	
	24,01	
Ix+If	-	15,84
	17,75	
	16,18	
	15,90	
	15,81	
	15,01	
	14,36	