



**Relatório de Estágio em contexto de empresa**  
**Envelhecimento de Vinho do Porto *Tawny*: Estudos de turvação**

**Ana Teresa Alves Araújo**

Dissertação para a obtenção do grau Mestre em  
**Engenharia de Viticultura e Enologia**

Orientador na Faculdade: Professor Doutor Victor de Freitas

Orientadora na Empresa: Engenheira Joana Furriel

**Júri:**

Presidente: Doutor Jorge Manuel Rodrigues Ricardo da Silva, Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutor Victor Armando Pereira de Freitas, Professor Catedrático da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

Vogais: Doutora Sofia Cristina Gomes Catarino, Professora Auxiliar Convidada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

2018

# Agradecimentos

As palavras são muitas e cruzam a minha mente a uma velocidade inigualável. Sempre foi assim, sempre me rodearam e fizeram parte da minha vida.

Hoje, procuro-as. Procuro, entre a miríade de palavras que me rodeiam, as que melhor me permitam agradecer. Tanto e tudo.

As grandes caminhadas da vida nunca se fazem sozinhas e – por sorte ou fado - encontraremos sempre pessoas dispostas a acompanhar-nos e a tornar o nosso caminho um pouco menos tortuoso. As nossas pessoas. Para estas um agradecimento não basta e o mundo não chega!

Mais que a disponibilidade e o apoio ao longo deste estágio, ao Professor Doutor Victor Freitas tenho que agradecer a amizade, a sincera amizade de quem tanto sabe e tem para ensinar.

À The Fladgate Partnership e ao Engenheiro David Guimaraens muito obrigada pela oportunidade enriquecedora que me proporcionaram e pela sempre presente receptividade.

Um especial agradecimento à minha orientadora na empresa, a Enóloga Joana Furriel por toda a atenção, tempo investido, pela paciência e por todos os ensinamentos, do trabalho e da vida. As mulheres são realmente extraordinárias.

A toda a área técnica da TFP, obrigada por o todo o carinho com que me receberam na empresa. Sem vocês, o meu estágio não teria memórias tão felizes. Obrigada.

Para os meus amigos, os melhores, o maior beijo do mundo. Não sei onde me arranjaram mas agora têm de levar comigo! Por todas as discussões, por todas as graçolas e por todos os sorrisos, obrigada.

Para os meus pais e para o meu mano as palavras não bastam. Obrigada pelo amor, pelas partilhas, por uma vida cheia de cores e felicidade. Tudo o que sou, é vosso!

Mãe, Pai, obrigada por me deixarem voar.

# Resumo

O Vinho do Porto foi, é e continuará a ser um produto-chave da economia nacional e, acima de tudo, um valor simbólico e emocional que representa Portugal além-fronteiras. Nasceu, assim, aqui, no Douro, nesta paisagem vitivinícola singular, um Património cultural coletivo, único e de espessura histórica incontornável. Rico em trabalho e experiências, saberes e arte, acumulados ao longo de gerações.

Serve este relatório, no âmbito do Mestrado em Engenharia de Viticultura e Enologia, como suporte escrito do Estágio Curricular, levado a cabo em contexto empresarial, na Quinta and Vineyard Bottlers, S.A., sediada em Vila Nova de Gaia. O período de estágio estendeu-se de fevereiro a junho de 2018, etapa durante a qual foram exercidas funções que visaram a implementação e consolidação de saberes previamente adquiridos, assim como o desenvolvimento e aquisição de novos conhecimentos e a consciencialização de novas realidades.

O objetivo primeiro deste trabalho, passa pelo desenvolvimento de um programa de análises e metodologias que permitam a identificação de um problema de turvação ocorrente em Vinho do Porto em envelhecimento, ou seja, Porto Tawny, da marca Taylor®, em diversas fases da sua evolução.

Paralelamente, foram desenvolvidos outros projetos, como o estudo da presença de tensioativos em águas residuais, que estarão também descritos neste documento.

Palavras-chave: Vinho do Porto; Tawny; turvação; tensioativos; águas residuais

# Abstract

In spite of being, undoubtedly, a key product in the Portuguese national economy, Port Wine is, nonetheless, more. Port is as much a product as a symbolic and emotional token that represents Portugal all across the seven seas. It was born, here, in the Douro, in this strenuous, but outstanding landscape a unique collective cultural patrimony with and unpaired historic parallel. The Douro tells you a story of pain and happiness, of hard work and unspeakable experiences, of tales and art, all through the history of time.

This report, in scope of the MSCs in Engineering of Viticulture and Winemaking, serves as a written support to the curricular internship developed at Quinta and Vineyard Bottlers, S.A., located in Vila Nova de Gaia. The internship took place between February and June 2018, and during this time the trainee was challenged to employ all the knowledge previously acquired all the while developing new competences and learning new realities.

The main objective of this work comprehends the development of a program of analysis and methodologies that will allow the identification of a turbidity problem occurring in aging Port Wine, more specifically Taylor® Tawny Port, in several phases of its evolution.

At the same time, there were other projects being developed, such as the presence of surfactants on residual waters, which will also be described in this report.

Keywords: Port wine; Tawny; Turbidity; surfactants; residual waters

# Índice

Agradecimentos .....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Abreviaturas .....	x
Introdução .....	xi
I. Capítulo I: Revisão Bibliográfica .....	1
1. O Vinho do Porto .....	1
A. Enquadramento Histórico .....	1
A.1. As sub-regiões e como se delimitam .....	4
B. Vinificação, estilos e organolética .....	5
B.1. Da vinha ao lagar .....	5
B.2. Estilos e organolética.....	9
B.2.1. Ruby e Tawny correntes, Branco e Rosé.....	10
B.2.2. Tawny com Indicação de Idade.....	10
B.2.3. Categorias Especiais.....	11
B.2.4. Outros estilos .....	11
C. O Vinho do Porto Tawny e o seu envelhecimento oxidativo .....	13
C.1. Evolução cromática durante envelhecimento .....	13
C.2. Evolução aromática durante envelhecimento.....	14
2. Fenómenos de turvação em vinho e os principais responsáveis .....	17

A. Turvações físicas.....	17
B. Turvações microbiológicas.....	17
C. Turvações físico-químicas.....	18
C.1. Colóides.....	18
C.1.1. Casse oxidásica.....	18
D. Turvações minerais: casses cúprica e férrica.....	19
E. Estabilidade tartárica.....	19
F. Casse proteica.....	20
II. Capítulo II: Contextualização prática e estudos de turvação.....	21
1. The Fladgate Partnership e QVB.....	21
A. Processo de seleção e envelhecimento de Tawny na Companhia.....	22
B. Descrição do mecanismo do controlo analítico e sensorial em Porto Tawny na QVB	
24	
C. Objetivo do trabalho prático.....	26
D. Materiais e Métodos.....	27
D.1. Vinhos e Amostragem.....	27
D.2. O laboratório.....	28
D.3. Estudos de turvação – metodologia.....	28
D.3.1. Delineamento Experimental para verificação de turvação.....	28
D.3.2. Método utilizado pela QVB para determinação de turvação por nefelometria:	
Método OIV-MA-AS2-08.....	29
E. Resultados e Discussão.....	33
E.1. Levantamento de dados.....	33
E.2. Estudos de turvação: análise bimestral.....	36

E.3. Elaboração de nova metodologia de análise: adaptação de método anterior .	40
E.4. Campanha de sensibilização para funcionários de armazém.....	41
F. Conclusões e trabalhos futuros.....	44
III. Capítulo III: Outros projetos.....	45
1. Resíduos de tensoativos em águas residuais.....	45
A. Processo típico de limpeza e desinfecção.....	45
B. Os detergentes .....	46
C. Os desinfetantes .....	46
D. Agentes tensoativos ou surfactantes .....	46
D.1. Principais tensoativos, bioconcentração e produtos de degradação .....	47
D.2. Biodegradação no ambiente .....	49
D.3. Efeito biológico dos tensoativos e dos seus produtos de degradação.....	52
E. Métodos de deteção de resíduos de agentes de limpeza .....	54
IV. Avaliação crítica do Estágio.....	56
V. Referências Bibliográficas .....	57
VI. Anexos.....	68

# Lista de Figuras

Figura 1 - Mapa ilustrativo da atual região demarcada do Douro e suas respectivas subdivisões: Baixo Corgo, Cima Corgo e Douro Superior .....	5
Figura 2 - Estilos e subestilos de Vinho do Porto .....	12
Figura 3 - Esquema ilustrativo da reação de Maillard.....	16
Figura 4 - Processo de seleção e envelhecimento de Tawny na QVB.....	23

# Lista de Tabelas

Tabela 1 - Vinificação e envelhecimento dos diferentes estilos e subestilos de Vinho do Porto.....	9
Tabela 2 - Controlo analítico adotado pela QVB para análise de vinhos ao longo do seu envelhecimento .....	24
Tabela 3 - Número total de lotes em estudo: Reserva Tawny Taylor® entre os 10 e os 40 anos .....	27
Tabela 4 - Lotes de vinhos selecionados com base na análise de resultados de turvação anteriores, desde a sua formação de lote até ao momento.....	28
Tabela 5 - Cronograma de recolha de amostras de lotes selecionados para estudo de turvação nas diferentes épocas do ano, atendendo às diferentes condições de humidade e temperatura que se fazem sentir em cada estação .....	32
Tabela 6 – Tabela-resumo do levantamento de dados relativo às análises de turvação de anos anteriores, desde a formação de lote até ao momento atual. Foram analisados no total 102 lotes, divididos por 4 subcategorias do estilo Tawny. ....	34
Tabela 7 - Lotes selecionados para estudo de turvação após análise estatística. Indicação do tipo e localização dos depósitos a analisar e data da última operação realizada.....	35
Tabela 8 - Análises do mês de maio – início do estudo – e última análise efetuada antes do início do estudo. Foram também registados os valores de temperatura e humidade do dia em que foram recolhidas as amostras para análise. ....	39
Tabela 9 - Biodegradabilidade de tensioativos no ambiente .....	49

# Lista de Abreviaturas

AP – alquilfenol

APE – etoxilatos de alquilfenol

AS – alquilsulfonato

BCF- fator de bioconcentração

AC – análises completas

C<sub>B</sub> – concentração na biota

CQ – controlo de qualidade

C<sub>w</sub> – concentração na água

DO – denominação de origem

IVDP – Instituto Vinho do Douro e do Porto

K<sub>ow</sub> – lipofilicidade medida em coeficiente de água/octanol

LAS – sulfonatos de alquilbenzeno lineares

LBV – Late Bottled Vintage

NP – nonilfenol

OP - octilfenol

Porto – Vinho do Porto

QVB – Quinta and Vineyard Bottlers, S. A.

QACs – compostos quaternários de amónia

SPC – ácidos mono- e dicarboxílicos de sulfofenil

SQVP – Single Quinta Vintage Port

TFP – The Fladgate Partnership

# Introdução

O presente estágio foi realizado no âmbito da unidade curricular de Dissertação, do Mestrado em Engenharia de Viticultura e Enologia do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa em conjunto com a Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Tal como definido no regulamento desta unidade curricular, é permitido que os alunos optem pela modalidade de estágio, dissertação ou projeto. Neste caso, deu-se prioridade à realização de um estágio curricular em contexto profissional, que teve lugar na Quinta and Vineyard Bottlers, S.A., de 17 de Fevereiro a 30 de Junho de 2018.

Esta Empresa, sediada em Vila Nova de Gaia, pertence ao grupo The Fladgate Partnership (TFP) que é, na atualidade, um dos três maiores produtores, comercializadores e exportadores de Vinho do Porto.

Por considerar o Vinho do Porto um dos maiores casos de sucesso no mundo vitivinícola, pela enorme paixão que lhe tenho, e pelo prestígio e qualidade associados às várias marcas da TFP, optei por este local de estágio, no sentido de poder integra-lo, participar nas atividades a desenvolver e contribuir para o seu desenvolvimento e crescimento, através de todas as competências e conhecimentos adquiridos ao longo do mestrado.

No presente relatório, fruto do estágio realizado, pode encontrar-se uma descrição das atividades desenvolvidas no decorrer dos meses. Este trabalho encontra-se dividido em três capítulos principais, sendo o primeiro capítulo dedicado a uma revisão bibliográfica do Vinho do Porto e das principais causas de turvações presentes em vinhos, o segundo uma contextualização prática da Empresa e do projeto desenvolvido e o seu subsequente progresso e, por último, no terceiro capítulo apresentam-se os outros projetos levados a cabo durante o estágio.

Da parte final deste relatório consta também uma avaliação crítica do estágio realizado, do ponto de vista pessoal de quem o sentiu e viveu.

# I. Capítulo I: Revisão Bibliográfica

## 1. O Vinho do Porto

### A. Enquadramento Histórico

A produção de vinho sempre apresentou uma posição de destaque na agricultura portuguesa, uma vez que a sua comercialização tem grande impacto na economia nacional. Assim sendo, é correto afirmar-se que a produção de vinho é uma tradição antiquíssima e uma das mais importantes apostas do Estado Português para fomentação da economia (Martins, 1998).

Atualmente, as áreas de vinha encontram-se espalhadas um pouco por todo o território português, dividindo-se em diversas regiões de produção vitivinícola que, conforme seria de esperar, originam vinhos com características analíticas e organoléticas completamente distintas (Loureiro & Fernandes, 2011).

A região Demarcada do Douro localiza-se no nordeste de Portugal, na bacia hidrográfica do Douro, cercada por montanhas que lhe proporcionam as suas tão disputadas características mesológicas, climatéricas e agrológicas capazes de produzir uvas de elevada qualidade que mais tarde se refletirá na qualidade dos vinhos obtidos. Um dos vinhos fortificados com maior reconhecimento a nível mundial é produzido nesta região: o Vinho do Porto. De todos os vinhos portugueses, este vinho licoroso é o mais conhecido tanto em Portugal como além-fronteiras.

Apesar de se remontar o cultivo da vinha no Douro à Antiguidade, é a partir do século XVI que a viticultura se assume, com importância e qualidade crescentes, destinada a propósitos comerciais (Sousa, 2002).

O tratado de Methuen veio, em 1703, permitir a entrada em vigor de certas regalias nas trocas comerciais entre Portugal e Inglaterra, beneficiando a exportação lusa de Vinho do Porto para Terras de Sua Majestade e a importação de tecidos britânicos para o mercado nacional. De todos os vinhos portugueses, o mais apreciado e procurado pela sociedade Britânica era o Vinho do Porto – o qual se passaria a aguardentar para impedir contaminação microbiológica – aumentando, assim, a produção da Região do Douro (Cardoso, 2003). Como consequência da elevada procura, começou a adulterar-se o vinho, promovendo a diminuição da sua qualidade e surgiram também as primeiras fraudes.

A segunda metade do século XVIII ficou marcada pela diminuição drástica das exportações vinícolas a par de um ritmo de produção que parecia teimar em manter-se inalterável. O elevado volume de oferta e a perda de qualidade, promovem a diminuição dos preços de venda e os ingleses – maiores importadores - recusam-se a comprar vinho adulterado,

instalando-se uma das piores crises que o Douro atravessou até aos dias de hoje (Taylor's, 2017b).

É neste clima de depauperação e empobrecimento que surge a necessidade de implantar medidas rigorosas capazes de salvaguardar a qualidade dos vinhos. Em 1756, o Marquês de Pombal, na qualidade de Primeiro Ministro de Portugal, cria a Companhia Geral da Agricultura das Vinhas do Alto Douro com o intuito de evitar fraudes, assegurar a qualidade do vinho e equilibrar a produção e o comércio através da estabilização de preços e da primeira demarcação da região do vale do Douro (Cardeira, 2009; Taylor's, 2017b).

O século XIX, por sua vez, fica marcado por uma nova crise: as pragas. O oídio e a filoxera destruíram produções completas e aniquilaram grande parte dos vinhedos do Douro. Foi apenas com o levantar do embargo às cepas americanas que se conseguiu repovoar e recuperar níveis de produção competitivos (Cardeira, 2009).

Foi também no século XIX que se alterou significativamente o processo de vinificação do Vinho do Porto. Até então, – e como acima referido - a sua aguardentação servia unicamente para impedir a contaminação microbiológica, ou seja, a aguardente era apenas adicionada no momento do embarque. Tratava-se, desta forma, de um vinho seco e extremamente alcoólico para acompanhar refeições. Agora, a adição de aguardente passa a ser feita aquando da fermentação do vinho, levando à interrupção da mesma antes da sua compleição, originando vinhos licorosos. Esta alteração no momento de aguardentação é fulcral para a História do Vinho do Porto: permitiu combater a concorrência de que estava a ser alvo por parte dos vinhos franceses, e marcar uma posição diferenciadora relativamente aos demais vinhos do mercado (Simões, 2003).

A grande instabilidade política vivida no início do século XX em nada contribuiu para a produção vitivinícola nacional. Só a partir de meados dos anos 20 é que a produção do Douro volta a atingir níveis de interesse económico considerável. Em 1926, com a instalação de um novo regime político, foi criado o entreposto de Vila Nova de Gaia, que procurava funcionar como um prolongamento da região produtora. Todas as empresas ligadas ao comércio do Vinho do Porto passaram a ter aqui, obrigatoriamente, os seus armazéns de envelhecimento, acabando na prática com a comercialização direta no Vale do Douro. Em 1932, criou-se a Federação Sindical dos Viticultores da Região do Douro – Casa do Douro, responsável por proteger e regulamentar a produção. Mais tarde, são-lhe atribuídas outras autoridades, como a atualização de cadastros, a distribuição de benefício, o fornecimento de aguardente aos produtores, a fiscalização do vinho na região demarcada e a concessão de guias para posterior transporte para o entreposto de Gaia. Em 1933, nasceu o Grémio dos Exportadores do Vinho do Porto – associação responsável por zelar pela disciplina do comércio – e o Instituto do Vinho do Porto. Este último, passa a ser responsável pelo controlo das atividades

da Casa do Douro e do Grémio dos Exportadores, bem como pelo estudo e promoção da qualidade, fiscalização e propaganda do Vinho do Porto (Pereira, 2004).

A Segunda Guerra Mundial, responsável pelo enfraquecimento económico de Inglaterra e, por conseguinte, pelo declínio do mercado inglês, obriga o Vinho do Porto a metamorfosear tanto na gama como nos seus destinos comerciais. Concomitantemente à produção de categorias especiais que satisfaziam as necessidades das elites mundiais como o Japão, Canadá, os Estados Unidos e o Reino Unido, surge também a “popularização” do Vinho do Porto que pretende conquistar o mercado representado pelas classes médias europeias e nacionais (Simões, 2003).

O movimento corporativo, idealizado e concebido durante a década de 50 – com o Antigo Regime - e que abrangia mais de 10% do número de produtores e da produção vinícola nacional, é extinto com o 25 de Abril. No entanto, a Casa do Douro e o Instituto do Vinho do Porto mantêm-se em funções. Por sua vez, o Grémio dos Exportadores é substituído pela Associação dos Exportadores de Vinho do Porto que ainda hoje se mantém ativa, mas sob o nome de Associação das Empresas de Vinho do Porto (Loureiro, 2011). A criação desta associação tem como principal objetivo o escoamento do produto, aliado ao aumento do investimento na região através de um incremento na produção pela compra de novas quintas e vinhedos e realizando novas plantações. Paralelamente, desenvolve-se um movimento de exportação direta, a partir das quintas do Douro, em nome dos respetivos produtores, que havia perdido força desde 1926, mas que ganha um novo estímulo em 1986 com a criação da Associação de Produtores Engarrafadores de Vinho do Porto (Pereira, 2004).

1995 foi portador de uma nova reestruturação institucional da Região Demarcada do Douro. A partir desta data, passou a existir a Comissão Interprofissional da Região Demarcada do Douro (CIRDD). Tratava-se de um organismo interprofissional, do qual participavam os representantes da lavoura e do comércio, com o objetivo de controlar e disciplinar a produção e comercialização dos vinhos da região com menção de denominação de origem (DO). O conselho geral da CIRDD era constituído por duas secções: uma responsável pela DO “Porto” e outra pelos restantes vinhos de qualidade da região. Finalmente em 2003, procede-se à última das modificações institucionais. A CIRDD é substituída por um Conselho Interprofissional integrado no Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto (IVDP, 2018d) (Pereira, 2004).

A nível local e mais detalhado, as parcelas para produção de uvas para Vinho do Porto são sujeitas a um complexo sistema de classificação, que permite que a autorização de produção seja distribuída de acordo com a qualidade potencial. Pontos são atribuídos às parcelas com base - entre outros fatores - nas castas plantadas, declive, tipo de solo, altitude, aspeto e produtividade. Assim, serão classificadas de A a F e apenas as vinhas com maiores pontuações (A e B) serão autorizadas a produzir maiores proporções de uvas para Porto

(Portaria nº 413/2001). As propriedades melhor classificadas, e cujas uvas são consideradas mais adequadas, encontram-se a baixas altitudes nas sub-regiões de Cima Corgo e Douro Superior. Anualmente é autorizada a transformação de cerca de 55 milhões de hectolitros de mosto em Vinho do Porto. Esta quantidade é, no entanto, variável e depende da razão produção/procura. A quantidade de Vinho do Porto a produzir é controlada pelo IVDP através da limitação de aguardente autorizada para uso em cada campanha (Hogg, 2013).

Atualmente, são muitas as considerações feitas sobre o Douro e o Vinho do Porto. De acordo com dados apresentados pelo IVDP (IVDP, 2018c), em 2017, o volume de negócios desta região alcançou os 556 milhões de euros, dos quais 322 milhões são diretamente originados na venda exclusiva de Vinho do Porto.

Criou-se assim, aqui, no Douro, nesta paisagem vitivinícola singular, um Património cultural coletivo único e de espessura histórica incontornável. Rico em trabalho e experiências, saberes e arte, acumulados ao longo de gerações. O Vinho do Porto foi, é e continuará a ser um produto-chave da economia nacional e, acima de tudo, um valor simbólico e emocional que representa Portugal no Mundo de forma especial.

#### A.1. As sub-regiões e como se delimitam

Atualmente, a Região Demarcada do Douro encontra-se divididas em três sub-regiões que se fazem distinguir, tanto por fatores climáticos como por fatores socioeconómicos. A distribuição das vinhas por estas áreas não é uniforme. No Baixo Corgo a área vitivinícola chega a ocupar cerca de 14000 hectares, distribuídos por quase 16000 produtores, indicando que cada produtor apresenta menos de 1 hectare de vinha. Já no Douro Superior, uma região mais desértica, o número de produtores é inferior ao número de hectares de vinha plantada: 9000 hectares para 7900 produtores (Infovini, 2009).

Em cada região há ligeiras alterações climáticas, devido à altitude e também à exposição solar nos vales profundos. De um modo geral, o clima é bastante seco e os conjuntos montanhosos oferecem às vinhas proteção contra os ventos (Infovini, 2009). No Baixo Corgo, o ar é mais húmido e fresco, contando ainda com alguma influência atlântica. Paralelamente, a pluviosidade é mais elevada, permitindo uma melhor fertilização dos solos e o aumento consequente da produção. No Cima Corgo, por sua vez, o clima é mediterrânico e no Douro Superior, finalmente, o clima chega mesmo a ser desértico, apresentando no Verão temperaturas a rondar os 50°C (Infovini, 2009).

Para o melhor Vinho do Porto, reservam-se as encostas mais áridas e próximas do rio, enquanto os vinhos de mesa são produzidos nas encostas mais frescas. A sub-região do Baixo Corgo, antigamente considerada a melhor área para produção de Porto, revela-se, agora, como a melhor região para produção de Porto Tawny e vinhos tranquilos (Taylor's, 2017c). Na região do Pinhão – Cima Corgo – os bagos de uva atingem maiores concentrações

de açúcares, sendo, então, considerada a área perfeita para a produção de Vintage. Por outro lado, reservam-se as regiões mais altas e frescas do Cima Corgo e Douro Superior para a produção de vinhos brancos, espumantes, do generoso Moscatel e alguns Vintage que se pretendam mais frescos (Taylor's, 2017c).

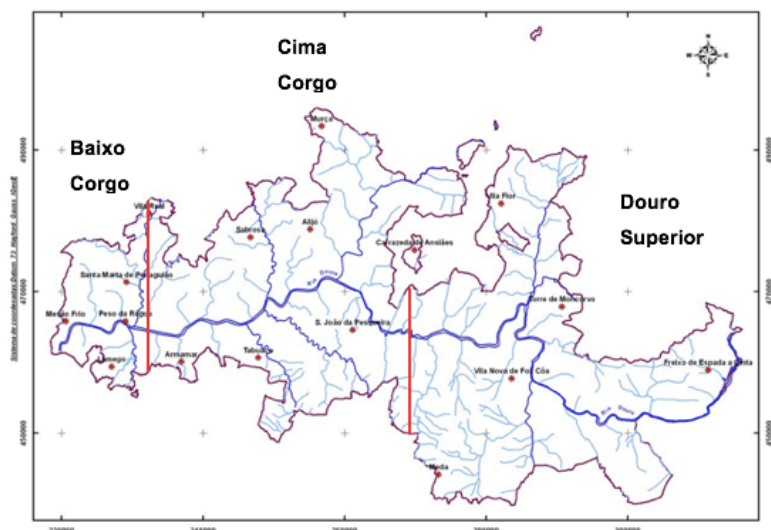


Figura 1 - Mapa ilustrativo da atual região demarcada do Douro e suas respectivas subdivisões: Baixo Corgo, Cima Corgo e Douro Superior

Fonte: adaptado de IVDP (IVDP, 2018e)

## B. Vinificação, estilos e organolética

### B.1. Da vinha ao lagar

Em setembro – regra geral – a vindima começa. No Douro, a tradição mantém-se e as uvas são recolhidas manualmente, por homens e mulheres, em caixas de pequena dimensão: os cestos, caixas de madeira capazes de armazenar 60 a 70kg de uvas, foram substituídos por contentores de plástico perfurados que previnem o rompimento dos bagos e o início prematuro da fermentação alcoólica. Atualmente, o trator é utilizado para transportar as uvas para a adega, mas a recolha manual das uvas mantém-se, especialmente nos patamares antigos onde não há espaço para a mecanização.

Chegadas as uvas à adega, começa a vinificação. Os processos muito se alteraram, a tecnologia chegou ao Douro e veio para ficar. De acordo com o método tradicional, as uvas eram simplesmente atiradas do cesto para o lagar. Hoje, a história tem outros contornos.

Primeiro as uvas são pesadas, especialmente se forem avaliadas pelo peso e se forem compradas a viticultores externos. De seguida, avalia-se o teor em açúcares – álcool provável – e o pH. Estas verificações são essenciais aos passos de vinificação seguintes: as correções com ácido tartárico e dióxido de enxofre. Os níveis de açúcar e pH são avaliados diversas

vezes durante o processo de vinificação, de modo a assegurar critérios de qualidade e de estabilidade microbiológica.

O processo de vinificação do Vinho do Porto – em lagar ou cuba inox - divide-se em algumas subcategorias que a seguir serão descritas (Oldenburg, 1999a):

**Desengaçamento:** independentemente do método de vinificação escolhido, grande parte das marcas preferem atualmente a remoção total ou quase total dos engaços antes do esmagamento, por forma a prevenir a presença de taninos que constituem os engaços verdes e a posterior sensação de adstringência que conferem aos mostos. A utilização de engaços - em pequena percentagem - durante a vinificação é também um método posto em prática nas produções modernas, pois permite a estabilização cromática durante o curto espaço de tempo em que ocorre a fermentação do Vinho do Porto. Esta técnica requer, no entanto, alguns cuidados com utilização de engaços, devendo esta reduzir-se apenas a engaços que estejam lenhificados.

**Esmagamento e maceração pelicular:** é essencial que as uvas sejam esmagadas antes do início da fermentação, correndo, caso contrário, o risco de não haver extração de cor suficiente. A maceração pelicular poderá promover-se de formas distintas dependendo da qualidade e tipo de vinho a produzir:

a) Pisa (manual) tradicional – esquecendo o aparato à volta dos lagares para agrado turístico, ainda hoje se utiliza esta técnica com frequência e por um motivo simples: trata-se do método mais eficaz, não havendo, até ao momento, qualquer máquina capaz de imitar a pressão dos pés descalços a pisar uvas, sem as destruir: reservando-se, assim, esta prática para a produção de Vinho do Porto de maior qualidade. Apesar da maioria dos produtores ter adotado a sua própria técnica de pisa, o esqueleto mantém-se inalterado. Enche-se o lagar até 20-30cm do topo e adiciona-se dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) para prevenir o começo da fermentação até ao fim do processo de enchimento (Oldenburg, 1999a). A primeira pisa, o chamado “Corte do lagar”, exige o trabalho de dois homens por pipa de Vinho do Porto a produzir. Assim, os homens formam uma fila de cada um dos lados do lagar e começam a mover-se, a comando do caseiro da Quinta, na direção da fila oposta até se encontrarem no meio do lagar. Depois, voltam para trás ou movem-se na diagonal dependendo da ordem. Esta primeira pisa dura entre 2 a 4 horas, altura em que o mosto começa a correr livremente e as películas formam uma massa espessa. A partir deste momento, a pisa torna-se mais fácil, podendo os homens ao comando “Liberdade” movimentar-se livremente e ao comando “Pisa Livre” pisar ao seu ritmo. Durante a noite o mosto fica em repouso e atinge os desejados 28°C que marcam o início da fermentação alcoólica. É nesta fase, que se dá a adição de ácido tartárico, caso seja necessária. Na manhã seguinte, a “Pisa Livre” continua. O padrão a seguir poderá ser, por exemplo, pisar três horas, descansar duas, pisar três horas, e por aí fora, até a fermentação estar

bem encaminhada. Testes para a evolução da fermentação são realizados com frequência, analisando o grau Baumé – teor em açúcares – para perceber quando esta deve ser interrompida. Durante a fermentação é essencial manter a manta húmida para evitar contaminações microbiológicas. Assim, a manta deve ser submersa ou molhada em intervalos regulares quer por mexa ou macacos. No final, quando vinho/mosto atinge o grau Baumé desejado, dá-se a aguardentação, frequentemente por recurso a bombas misturadoras.

**b)** Prensagem moderna – como referido anteriormente nenhum método é tão sensível e eficaz como a pisa manual, no entanto, a falta de mão de obra levou os grandes produtores a procurarem outras soluções. Primeiro experimentou-se com a autovinificação, mas sem grande sucesso, e depois surgiram os robôs pisadores que agora se encontram, sob várias formas, um pouco por todas as casas de Vinho do Porto (Oldenburg, 1999a). Nestes sistemas modernos, são utilizadas cubas de inox com pisadores mecânicos ou robôs pisadores, ou mantêm-se os lagares tradicionais, mas substitui-se a pisa manual por pisadores mecânicos (Oldenburg, 1999a).

**c)** Remontagens – neste sistema uma percentagem do mosto é recolhida e espalhada pela manta para mantê-la húmida e permitindo simultaneamente a maceração e extração de alguns compostos de cor. As uvas são pisadas por meio de ripas, blocos, pistões ou mecanismos semelhantes. A principal característica associada a este tipo de sistema é a rapidez e a suavidade com que se deve realizar, para evitar a extração demasiada e, por conseguinte, de compostos e sabores indesejados.

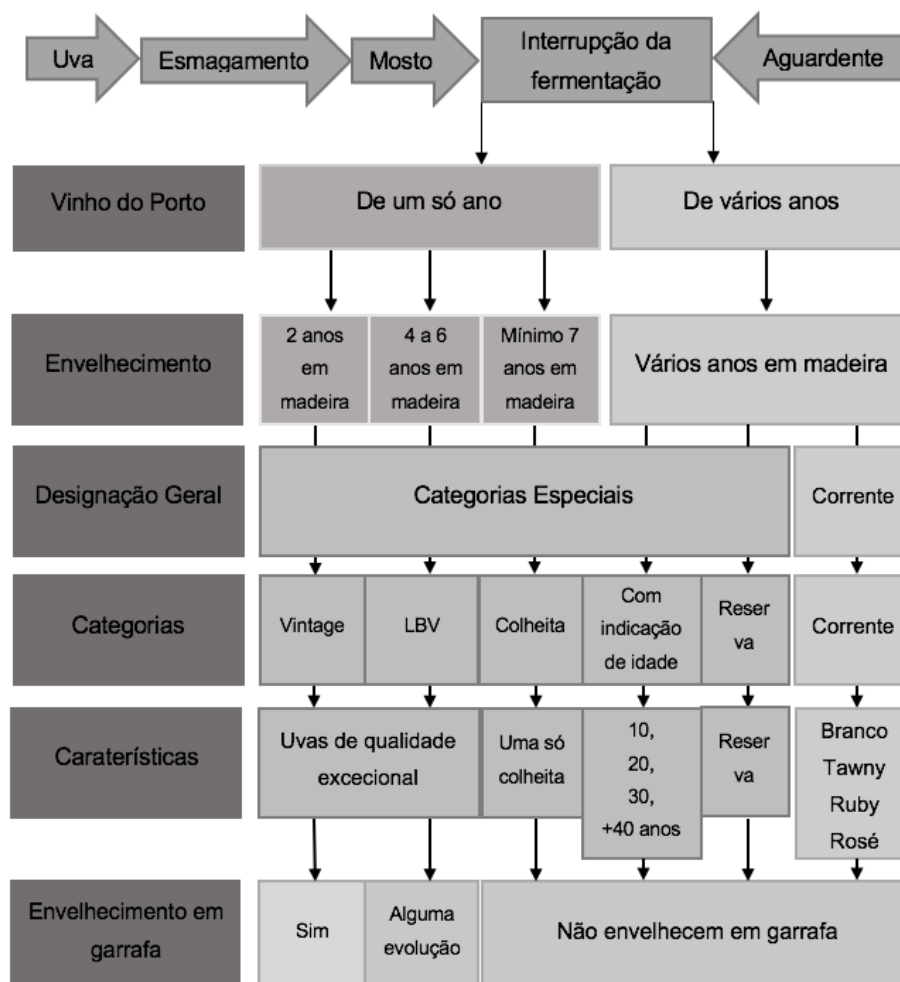
A falta de disponibilidade e o elevado custo da mão-de-obra apresentam-se como grande obstáculo à prática de vinificação em lagar, obliterando-a em favor de outras técnicas mais simples e também eficazes. A eficiência dos lagares relaciona-se com a sua geometria particular - permite que a manta do mosto apresente uma maior razão área de superfície/volume que as cubas de fermentação normais - e com a suavidade garantida pela pisa manual (Birks & Sarmiento, 1991). Contudo, nos artigos que comparam a eficiência dos lagares tradicionais com as modernas cubas de inox com recurso a remontagens e pistões mecânicos, o pouco que se pode encontrar, é inconclusivo. Birks e Sarmiento (1991) mostraram, para uvas do mesmo lote e qualidade, uma maior extração de matéria corante e taninos em lagares. A diferença encontrada pareceu, no entanto, poder relacionar-se com a mistura mecânica inicial, uma vez que as cinéticas de extração que se seguiram, foram semelhantes em ambas as experiências. Bakker and Timberlake (1986) conduziram um estudo comparativo das duas práticas e não encontraram diferenças significativas. Por sua vez, Barbosa, et al. (2003), encontraram diferenças significativas em mostos fermentados em lagar. Neste caso, para além dos taninos e matéria corante, verificou-se também a elevada presença

de precursores terpénicos ligados por pontes glicosídicas. Na prática, estas conclusões coincidem com as observações empíricas que caracterizam os lagares como a melhor técnica de produção de vinhos para envelhecimento em garrafa, como o caso do Vintage (Hogg, 2013).

**Aguardentação:** após o processo de maceração e fermentação, quando os pistões tiverem concluído o seu trabalho, e o vinho/mosto apresentar o Grau Baumé desejado (entre os 6 e os 8°Bé), este é retirado dos lagares ou cubas em que se encontra e é-lhe adicionada aguardente (Oldenburg, 1999a). Geralmente, o líquido é esgotado e diretamente misturado com a aguardente. Por sua vez, as massas sofrem prensagem e o vinho resultante – conhecido como vinho de prensa – poderá ser adicionado ao que já havia sido aguardentado. O Baumé de prensagem/aguardentação e a quantidade de aguardente a adicionar dependem do tipo, do carácter e do temperamento do vinho, assim como, da filosofia da Casa que o fabrica. Independentemente das filosofias a seguir, uma característica mantém-se inalterada e obrigatória: a aguardentação deve ser feita recorrendo a aguardente vínica ou vitivinícola - aprovada pelo IVDP - neutra, incolor e com 77% v/v, de modo a produzir um vinho de sobremesa com teor alcoólico entre os 18 e os 20%v/v. A proporção de aguardente a adicionar ronda 1:4, com algumas variações relacionadas com o grau alcoólico desejado. O papel e importância da aguardente na qualidade do produto final têm sido alvo de grande interesse na indústria do Vinho do Porto. Uma vez que grande parte do volume do produto final se faz constituir por aguardente, a sua composição acarreta preocupações a nível de segurança alimentar, por exemplo, pela presença de concentrações vestigiais de uretano e metais pesados (Reader & Dominguez, 2003). Paralelamente, começa também atribuir-se elevada importância à composição química das aguardentes utilizadas. Rogerson e de Freitas (2002) mostraram que determinados compostos aromáticos que constituem as aguardentes, contribuem diretamente para a complexidade aromática dos Vinhos do Porto jovens, contudo, não se sabe a sua relevância durante a evolução e envelhecimento. Acrescidamente, outros estudos demonstraram que a composição da aguardente em aldeídos influencia a componente cromática e tânica dos Vinhos do Porto (Pissarra, 2005), facto consistente com o que atualmente se sabe do papel dos compostos carbonílicos (em especial dos aldeídos) no desenvolvimento de compostos fenólicos durante o processo de envelhecimento (Hogg, 2013).

Tabela 1 - Vinificação e envelhecimento dos diferentes estilos e subestilos de Vinho do Porto

Adaptado de: Loureiro (2011)



## B.2. Estilos e organolética

É bastante prático, tanto para provadores como consumidores, distinguir entre o estilo Ruby com toques frutados e com pouco contato com madeira, e o *Tawny*, com toques de madeira e fumo que advêm de um longo processo de envelhecimento em cascos de madeira.

Apesar do desenvolvimento da tecnologia no setor vinícola, raramente se ouve um provador pronunciar o seu veredito sobre a qualidade de uma vindima numa fase precoce. O Decreto-Lei n.º 166/86 de 26 de Junho de 1986 sobre os diferentes tipos de Porto indica, com mais ou menos precisão, quando as decisões de maior importância devem ser tomadas (IVDP, 2018f). Atualmente – e desde 1986 - há quatro tipos de Vinho do Porto legislados com o máximo detalhe no que concerne aos processos de envelhecimento e engarrafamento: *Porto Vintage* e *LBV* na categoria *Ruby*, e *Colheita* e *Indicação de Idade* na categoria *Tawny*.

Os *Tawny* são vinhos de paciência. Tanto os *10*, *20*, *30* como os *mais de 40 anos* podem ser loteados a qualquer altura e os *Colheita* podem ser engarrafados a qualquer momento depois da aprovação e envelhecimento.

Os *Ruby* são mais críticos. Um *LBV* poderá ser mais flexível em limites de tempo, mas o *Vintage* não. Para se declarar um ano *Vintage*, primeiro o vinho terá de ser aprovado pelo IVDP entre 1 janeiro e 30 setembro “do seu segundo ano de vindima”, de acordo com os trâmites legais (IVDP, 2018f). Posteriormente terá de ser engarrafado entre 1 de julho do segundo ano e o 30 de junho do terceiro ano após a vindima (IVDP, 2018f).

Todos os outros tipos, incluindo o *Vintage Character*, o *Crusted Port*, *Full Port*, *White Port* e *Rosé Port*, entre outros, são considerados vinhos indefinidos e não requerem qualquer tipo de obrigação especial. Assim, podem variar muito em estrutura e qualidade dependendo da sua origem e produtor.

#### *B.2.1. Ruby e Tawny correntes, Branco e Rosé*

Estes vinhos representam a grande maioria do Vinho do Porto produzido.

O Vinho do Porto *Ruby* é um vinho em que se procura sustentar a evolução da cor tinta, mais ou menos intensa, e manter o aroma frutado e vigor dos vinhos jovens. Resulta de uma mistura ao estilo da casa produtora e é geralmente envelhecido durante um intervalo de tempo que ronda os 4 e os 6 anos em grandes tonéis ou balseiros (IVDP, 2018a; Taylor’s, 2017a).

Por sua vez, o Vinho do Porto *Branco* é produzido com recurso a uvas brancas e dá origem a vinhos ou do tipo aperitivo, pálidos e ásperos – dependendo do produtor – ou mais tradicionalmente a vinhos com cores mais intensas e sabor mais acentuado (doces) (Pissarra, 2005; Taylor’s, 2017a).

Os *Tawny* correntes, são vinhos alourados e jovens que resultam quer da mistura de *Ruby* e *Branco*, quer da aceleração do processo de envelhecimento – conservação dos vinhos em caves. Este é um estilo de vinho mais leve que o *Ruby* (Pissarra, 2005). Os aromas lembram os frutos secos e a madeira; quanto mais velho é o vinho, mais estas características se acentuam (IVDP, 2018a).

Finalmente os vinhos *Rosé*, são vinhos de cor rosada obtidos por maceração pouco intensa de uvas tintas e em que não se promovem fenómenos de oxidação durante processo de conservação (IVDP, 2018d). São vinhos para serem consumidos jovens, com boa exuberância aromática apresentando notas de cereja, framboesa e morango. Na boca são suaves e agradáveis (IVDP, 2018d).

#### *B.2.2. Tawny com Indicação de Idade*

São vinhos ricos e complexos, que envelhecem por períodos mais longos em cascos de carvalho (Taylor’s, 2017a). Por estarem tanto tempo armazenados em pipas de madeira

perdem a sua tonalidade tinta alourada e, através de processos oxidativos, adquirem a coloração castanha-avermelhada, com tons alourados (Pissarra, 2005). Estes incluem os Vinhos do Porto *Tawny* com 10, 20, 30 e 40 anos cujos aromas de noz, especiarias e madeira de carvalho intensificam quanto mais tempo estagiam em madeira (Pissarra, 2005; Taylor's, 2017a).

### *B.2.3. Categorias Especiais*

Estes estilos encerram em si vinhos de elevada notoriedade e são classificados como categorias especiais: *Vintage*, *LBV* ou *Late Bottled Vintage*, e Vinho do Porto com *Indicação de Colheita*. Estes são vinhos de uma só colheita, produzidos exclusivamente em anos de reconhecida qualidade e devem – para adquirir estatuto especial – ser reconhecidos de acordo com as regras vigentes (IVDP, 2018f).

Considerado por muitas pessoas como a jóia da coroa dos vinhos do Porto, o Vinho do Porto *Vintage* é o único que envelhece em garrafa. Produzido a partir de uvas de um único ano e engarrafado dois a três anos após a vindima, evolui gradualmente durante 10 a 50 anos em garrafa. O encanto do Porto *Vintage* reside no fato de ser atrativo em praticamente todas as fases da sua vida em garrafa. Nos primeiros cinco anos mantém a intensidade rubi das cores originais, aromas exuberantes a frutos vermelhos e silvestres e o sabor do chocolate negro, tudo equilibrado por fortes taninos. Após dez anos – e para além de criar um depósito médio – desenvolve tons vermelho granada e atinge uma deliciosa plenitude de aromas e sabores a frutos maduros. À medida que o vinho se aproxima da maturidade, a cor evolui para os tons âmbar ricos e a sua fruta adquire maior subtileza e complexidade e o seu depósito torna-se mais pesado (IVDP, 2018a; Taylor's, 2017a).

No entanto, quer devido ao seu largo tempo de envelhecimento, quer devido aos elevados preços que estes vinhos licorosos podem atingir, o mercado produtor sentiu a necessidade de criar uma alternativa mais acessível. Surge, assim, o *LBV*: produzido anualmente, envelhecido em cascos de grande dimensão durante períodos compreendidos entre os 4 e os 6 anos antes do engarrafamento, e são produzidos para serem consumidos brevemente, não tendo por isso evolução ou envelhecimento em garrafa (IVDP, 2018a; Taylor's, 2017a)

Estes estilos de Vinho do Porto são, regra geral, associados a produtos de melhor qualidade, apresentado, assim, características de elevada complexidade de aroma e sabor que os tornam tão distintos dos restantes vinhos.

### *B.2.4. Outros estilos*

Entre os outros tipos de Vinho do Porto disponíveis encontram-se o *Single Quinta Vintage Port (SQVP)*, o *Vintage Character*, o *Crusted Port* e o *Full Port*. Estes – com exceção do SQVP - não apresentam legislação específica, devem apenas ser aprovados por um painel de

provedores do IVDP em prova cega para que possam ser engarrafados e seguir para o mercado (Oldenburg, 1999b).

*Single Quinta Vintage Port* – como as últimas duas palavras indicam, é um Vintage Port e como tal deve obedecer às leis promulgadas para tal categoria. As duas primeiras palavras, por sua vez, são mais difíceis de explicar. Um *Vintage Single Quinta* deveria ser apenas produzido com uvas da Quinta mencionada no nome. No entanto, não há qualquer tipo de legislação que cubra este assunto, ficando a decisão ao arbítrio de cada produtor (Oldenburg, 1999a).

*Vintage Character* ou *Vintage Style* – como o próprio nome indica, é um vinho que se assemelha ao Vintage, mas que não corresponde a um ano *Vintage* (IVDP, 2018b). É expressamente proibida a indicação do ano de colheita na garrafa, uma vez que, poderá conduzir o consumidor a falsas interpretações (IVDP, 2018b). A sua qualidade e preço podem ser caracterizados como o meio-termo entre o Ruby corrente e o *LBV*.

*Crusted Port* – refere-se a um vinho do tipo Ruby com depósito, feito especialmente para o mercado britânico. Legalmente esta denominação não apresenta qualquer obrigação, e o seu preço e qualidade enquadram-no entre o *Ruby* e o *LBV* (Oldenburg, 1999b).

*Full Port* – designação utópica sem qualquer significado prático. Jogada comercial para posicionar o vinho numa gama de preços superior ao *Ruby* corrente (Oldenburg, 1999b).

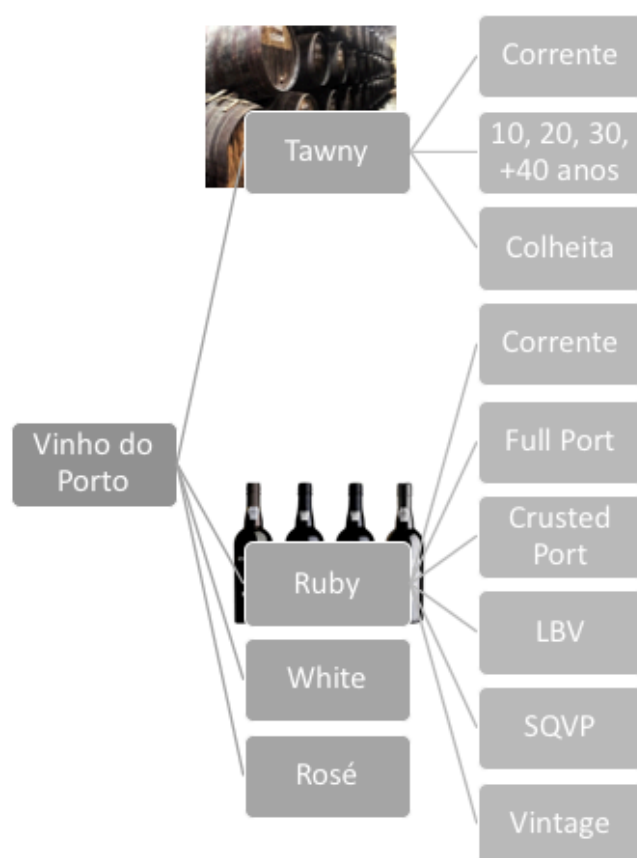


Figura 2 - Estilos e subestilos de Vinho do Porto

## C. O Vinho do Porto Tawny e o seu envelhecimento oxidativo

A extraordinária capacidade de envelhecimento de um Porto, em grande parte devida à aguardentação a que é sujeito durante o processo de vinificação, permite-lhe que melhore, tanto em casco como em garrafa, por períodos de tempo muito superiores a outros vinhos.

O propósito do envelhecimento é alterar as diferentes propriedades sensoriais do vinho, intensificando umas e diminuindo outras (L. Singleton Vernon & Cilliers Johannes, 1995), através de reações químicas e físicas que poderão acontecer a taxas diferentes.

Como acima referido, o Tawny é um estilo de Vinho do Porto que após o processo fermentativo é envelhecido em cascos de madeira de pequena dimensão (geralmente carvalho), desde o tempo mínimo exigido para os Tawny correntes até às longas décadas que caracterizam os subestilos *30 e mais de 40 anos*.

Uvas de qualidade, apesar de essenciais, não garantem a qualidade dos vinhos, especialmente dos Tawny. Neste caso, a natureza oxidativa do envelhecimento, torna esta etapa de produção na mais importante e crítica de todo o processo.

Tanto a complexidade como a qualidade do produto final dependem de diversas variáveis intrínsecas e extrínsecas. Fatores extrínsecos como os níveis de oxigénio do vinho, as operações de lotação e a temperatura de armazenamento são fatores que se conhecem como alteradores do envelhecimento. Acrescentadamente a idade dos cascos utilizados, a matéria-prima que os compõe e a frequência de utilização também são variáveis e passíveis de provocar alterações no vinho. Por outro lado, e relativamente a fatores intrínsecos, o pH do vinho e a composição e capacidade de oxidação dos compostos fenólicos são fatores-chave para um envelhecimento de sucesso (Carrascon, et al., 2015; Day, et al., 2015; N. Mateus, et al., 2001; C. M. Oliveira, et al., 2015; Sánchez-Iglesias, et al., 2009).

Deste modo, um Vinho do Porto envelhecido em madeira, sujeito a contato com oxigénio, irá evoluir - cromática e aromaticamente - de forma bem mais acelerada que um vinho que esteja confiando a uma garrafa arrolhada, sem contato com oxigénio.

### C.1. Evolução cromática durante envelhecimento

Como o Vinho do Porto, nas suas melhores categorias, tem como fado o envelhecimento e a maturação, vários estudos têm sido realizados envolvendo a química da pigmentação durante a evolução do vinho.

A antocianina – pigmento corante – mais abundante em uvas para Porto e, consequentes vinhos, é a malvidina e pode encontrar-se maioritariamente sob as formas de: malvidina-3-glucosídeo, malvidina-3-*p*-coumarilglucosídeo e malvidina-3-acetilglucosídeo (Bakker & Timberlake, 1985; N Mateus, et al., 2002).

Atualmente sabe-se que a cor do Vinho do Porto aumenta consideravelmente durante os primeiros meses de maturação, atingindo um pico (closing-up), e diminuindo de seguida (Bakker & Timberlake, 1986).

Durante o processo de maturação oxidativa a alteração cromática é explicada por reações de antocianinas mediadas ou pelo acetaldeído ou pelo ácido pirúvico.

O acetaldeído é formado pelo etanol a partir de uma autooxidação acoplada de compostos orto-difenólicos, resultando na formação de  $H_2O_2$  que posteriormente oxida o etanol a acetaldeído. O aumento em acetaldeído, por sua vez, provoca o aumento da taxa de polimerização tanino-antocianina (Chris Somers & Evans, 1977; L Singleton Vernon, et al., 1964; Timberlake & Bridle, 1976; Wildenradt & Singleton Vernon, 1974). Paralelamente, as antocianinas podem também reagir com o ácido pirúvico, formando aductos como a Vitisina A, molécula relativamente estável (Bakker & Timberlake, 1997). Com os seus trabalhos experimentais em soluções modelo, Romero and Bakker (2000) provaram que o ácido pirúvico compete com o acetaldeído pelas ligações a antocianinas. No caso de se formarem aductos de ácido pirúvico com a malvidina, verifica-se o seu aumento nos primeiros 100 dias após fortificação e depois a sua diminuição gradual (N Mateus, et al., 2002), em concordância com o “closing-up” já referido (Reader & Dominguez, 2003).

Contrariamente, os vinhos de mesa mantêm a sua intensidade de cor relativamente constante, podendo até verificar-se a sua ligeira diminuição. A diferença de maior importância entre estes tipos de vinho relaciona-se com a concentração de aldeídos livres, que no caso do Vinho do Porto se encontra aumentada, não só pela sua produção durante a fermentação, mas também devido à adição de aguardente para travar o processo fermentativo (Bakker & Timberlake, 1986).

## C.2. Evolução aromática durante envelhecimento

No Vinho do Porto *Tawny* as reações Maillard e de oxidação, bem como as alterações que conferem, como o acastanhamento, são essenciais (Silva Ferreira, et al., 2003).

Regra geral, o envelhecimento de vinhos provoca a perda dos aromas característicos das castas e da fermentação, e a formação de aromas característicos de vinhos mais velhos ou aromas atípicos associados à deterioração (Lambropoulos & Roussis, 2007).

Por exemplo, durante a maturação a maioria dos monoterpenóis veem a sua concentração diminuir devido a reações catalisadas por ácidos. Há, no entanto, alguns norisoprenóides que aumentam de concentração com o envelhecimento, como é o caso da  $\beta$ -damascenona e do 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN). Este último é formado durante o envelhecimento e causa os aromas descritos como “queroseno” e “petróleo” (Humpf, et al., 1991).

Os acetatos de éster apesar de serem dos principais constituintes a ser produzidos durante a fermentação, diminuem também a sua concentração durante o envelhecimento através de

reações de hidrólise química. Esta diminuição contribui para a perda do aroma frutado em vinhos envelhecidos (Marais, 1978).

O armazenamento de vinho em cascos de carvalho resulta também na alteração do perfil aromático, sobretudo devido à extração de compostos de aroma da madeira. As lactonas *cis* e *trans* são os compostos aromáticos extraídos da madeira de maior importância, conferindo ao vinho os aromas a “baunilha” e “coco” (Jarauta, et al., 2005). Outros aldeídos extraídos da madeira incluem o furfural e o 4-metilfurfural, que compartilham os aromas doces a “caramelo” e “madeira” (Campos, et al., 2008). Por sua vez, o 2-furanometaniol apresenta aroma de “café torrado” (Blanchard, et al., 2001). O Guaicol e o 4-metilguaicol conferem ao vinho o aroma “fumado”, e indicam o grau de tosta das barricas utilizadas (Jarauta, et al., 2005).

Alterações aromáticas causadas por reações não-enzimáticas, a temperatura ambiente, são apenas observadas depois de um longo tempo de armazenamento. A reação de Maillard e os aldeídos de Strecker que dela resultam têm um papel de destaque, relacionado com a libertação de compostos orgânicos voláteis.

A reação de Maillard caracteriza-se pela reação entre um açúcar redutor e um aminoácido: pode ser dividida na degradação de Amadori/Heyns e na degradação de Strecker (Hodge, 1953). Compostos nucleofílicos como as aminas ou aminoácidos facilmente são adicionados ao grupo carbonilo dos açúcares redutores, formando iminas (Monforte, 2012). Estas iminas por sua vez, poderão sofrer um rearranjo formando compostos intermediários, conhecidos como compostos de Amadori (Monforte, 2012). Os compostos mais conhecidos são o HMF (hidroximetilfurfural) e o furfural, que para além de formados durante estas reações, podem também ser originados durante a tosta da madeira e libertados durante o envelhecimento do vinho (Monforte, 2012). O segundo passo na reação de Maillard, é a degradação de Strecker e é, talvez, o mais importante em termos de formação de aromas. Neste passo os compostos  $\alpha$ -dicarbonílicos reagem com os aminoácidos, levando à formação de aldeídos (compostos de Strecker) (Monforte, 2012). Os aldeídos, dependendo do aminoácido degradado, têm um potencial aromático considerável.

O metional e o fenilacetaldéido estão relacionados com o típico aroma de oxidação (Silva Ferreira, et al., 2002). Apesar de formados durante as reações de Maillard, estes compostos podem também ser formados pela oxidação direta do álcool correspondente (Marchand, et al., 2000) ou pela reação de uma *o*-quinona com o aminoácido (Rizzi, 2006). Estas reações conduzem-nos assim para um novo mecanismo: a oxidação química.

Os principais responsáveis pelo consumo de oxigénio são os polifenóis. Quando um *o*-dihidroxifenol reage com O<sub>2</sub> para produzir uma quinona, é apenas necessário um átomo de oxigénio, aparecendo o segundo sob a forma de peróxido de hidrogénio (L. Singleton Vernon & Cilliers Johannes, 1995). Os aldeídos, especialmente o acetaldéido, resultantes da oxidação polifenólica são intermediários importantíssimos nas transformações químicas que

ocorrem no vinho, levando a alterações cromáticas e de pigmentação. Quando um aldeído reage com um álcool dá-se a formação de um acetal. O acetal mais importante encontrado no vinho é o dietoxietano, que resulta da oxidação entre o etanal e o álcool etílico.

Por outro lado, a oxidação do vinho poderá provocar a remoção de compostos aromáticos já existentes, particularmente aqueles compostos por enxofre, resultando na perda de aromas varietais (Nikolantonaki, et al., 2012).

O sotolon (3-hidroxi-4,5-dimetil-2(5H)-furanona) é um composto volátil com forte odor a caril. No Vinho do Porto esta molécula é caracterizada como identificadora da idade de vinhos Tawny, sendo que a sua concentração pode variar entre os  $\mu\text{g/l}$  em vinhos jovens e  $1\text{mg/l}$  em vinhos com mais de 50 anos (A. C. S. Ferreira, et al., 2005). O mecanismo de formação desta molécula ainda não é totalmente percebido, mas pensa-se que a sua origem poderá relacionar-se tanto com as reações de Maillard (Câmara, et al., 2004; Silva Ferreira, et al., 2003) como com fenómenos de oxidação (Cutzach, et al., 1999; Escudero, et al., 2011; Silva Ferreira, et al., 2003). O oxigénio e a temperatura parecem influenciar a taxa de formação do sotolon, sugerindo tratar-se de um composto de formação híbrida.

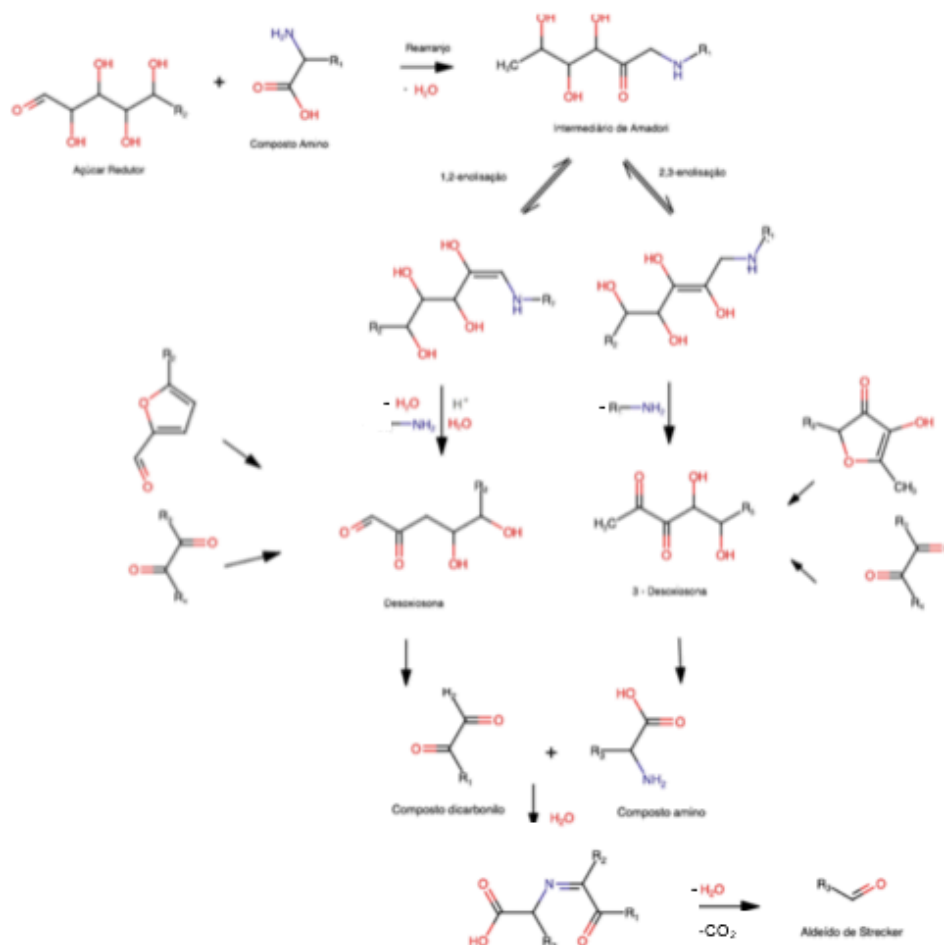


Figura 3 - Esquema ilustrativo da reação de Maillard

Adaptado de (Hodge, 1953; Monforte, 2012)

## 2. Fenómenos de turvação em vinho e os principais responsáveis

A turbidez - ou turvação - é um parâmetro quantitativo que avalia o número de partículas em suspensão num líquido e é de especial interesse e importância em estudos ambientais (ISO 7027, 1990; United States Environmental Protection Agency, 1999) e em diversos setores industriais, como é o caso das indústrias alimentar e vinícola (L. M. Couto & Caldeira, 2002; L. M. Couto & Caldeira, 2003; OIV, 1994; L. M. C. Oliveira & Clemente, 2003).

No panorama vitivinícola, particularmente, a turvação é um parâmetro de controlo básico durante o processo de vinificação e um parâmetro de qualidade no produto acabado. Em vinhos prontos a turvação é geralmente muito baixa, frequentemente abaixo dos 1 ou 2 NTUs, mas durante o processo de produção e envelhecimento a gama de valores é muito variada, podendo inclusive atingir valores tão elevados como 2000 NTUs (García, et al., 2008).

Atualmente não há qualquer padrão oficial ou diretiva legal no que concerne à presença de turvação e à sua influência na qualidade do vinho. O controlo de turvação é, no entanto, legal e considera-se que algumas das práticas atuais melhoram as qualidades organoléticas do produto (L. M. C. Oliveira & Clemente, 2003).

As turvações poderão, dependendo das condições de produção e armazenamento do vinho, apresentar diversas origens: física, microbiológica e físico-química.

De seguida serão brevemente descritos os principais processos de formação de turvação e distinguidas algumas das suas principais características.

### A. Turvações físicas

São associadas a situações de más práticas, como o caso de filtrações defeituosas e irregulares. Nestas situações, parte do material de filtração – terras de diatomáceas ou fibras de celulose - fica retido no vinho, originando turvação (Silva, 2011).

### B. Turvações microbiológicas

Os principais fenómenos de turvação de origem microbiana estão frequentemente associados a bactérias e leveduras, os microrganismos envolvidos no processo de fermentação ou presentes no habitat da adega. As bactérias – lácticas e acéticas – são responsáveis pela presença de doenças como a manite, o amargor, os picos láctico e acético, a gordura e a volta. Por sua vez, as leveduras podem, em vinhos com elevado teor em açúcares residuais (>1g/dm<sup>3</sup>), originar refermentações e turvações indesejadas. No entanto, a presença desses microrganismos é apenas causadora de turvação se a sua concentração for igual ou superior a 100000 UFC/mL (Silva, 2011). Para valores abaixo dessa concentração a estabilidade do

vinho é incerta e em casos de multiplicação bacteriana, poderá vir a ser verificada turvação (Cuinier, 1983).

A correta higienização da adega e a utilização de ácido sulfuroso previnem grande parte deste tipo de turvações.

## C. Turvações físico-químicas

De todas, as mais comuns e causadas por diversos tipos de situações. As principais alterações físico-químicas que ocorrem no vinho capazes de promover a sua turvação poderão apresentar natureza coloidal, férrica, cúprica, oxidásica, tartárica, proteica ou, podem também ser causadas por polissacáridos como as  $\beta$ -glucanas e as pectinas.

### C.1. Colóides

Os colóides podem dividir-se em lipofílicos e lipofóbicos/hidrofílicos, em função da sua afinidade com o solvente.

A estabilidade em solução destas partículas relaciona-se com o seu tamanho, com o valor das forças de atração entre as mesmas, carga elétrica e com força da gravidade (Saucier, 1997).

Contrariamente, a instabilidade coloidal prende-se com a floculação. Este fenómeno caracteriza-se pela agregação de partículas pequenas, originando flocos de maior dimensão capazes de causar turvação ou precipitar (J. Ribéreau-Gayon, et al., 1977).

Os colóides podem causar sérios problemas ao nível da clarificação e estabilização de vinhos, especialmente os colóides lineares, como as pectinas e as glucanas, que se agregam a outras partículas, impedindo a sua sedimentação natural.

As pectinas e as  $\beta$ -glucanas têm origem no bago e estão maioritariamente associadas a uvas débeis e atacadas por microrganismos como a *Botrytis cinerea*.

#### C.1.1. Casse oxidásica

Os taninos e os compostos polifenólicos em geral podem estar envolvidos, direta ou indiretamente, na formação deste processo. Após exposição ao oxigénio, os taninos oxidam e polimerizam-se, formando colóides que difratam a luz, promovendo turvações, perdas cromáticas, de sabor e aroma (R. Ferreira, et al., 2002; Jackson, 2008; Silva Ferreira, et al., 2002). Este fenómeno está comumente associado a uvas afetadas por fungos, por ação da lacase que é extremamente resistente ao  $\text{SO}_2$ .

Em 2006, Sioumis *et al.* demonstraram que o acastanhamento está fortemente relacionado com as reações redox dos compostos fenólicos com um grupo *o*-difenol, como é o caso dos ácidos gálico, caftárico e 2-S-glutationilcaftárico.

## D. Turvações minerais: casses cúprica e férrica

Os catiões minerais estão presentes – em teores não tóxicos - naturalmente em mostos e vinhos (P. Ribéreau-Gayon, et al., 2000). Desta forma, as turvações poderão surgir no decorrer do processamento industrial do vinho, tendo origem em diversos processos: equipamentos de vinificação, aditivos exógenos, fatores ambientais e atmosféricos, e práticas culturais (Silva, 2011).

Sempre que um vinho apresenta um elevado teor de ferro, geralmente acima dos 10mg/L, pode originar-se uma turvação ou alteração da cor conhecida como casse férrica (Curvelo-Garcia, 1998). Para o aparecimento de casse férrica são essenciais alguns fatores: a concentração em ferro e a sua concentração na forma férrica, o pH, a temperatura, luminosidade, arejamento, a adição de fosfato de amónia durante a fermentação, adições exógenas (taninos) e a má conservação do material enológico.

O ferro em condições de anoxia apresenta-se sob a forma de Fe (II), ferroso e quimicamente estável, não formando complexos insolúveis e mantendo a limpidez do vinho. Contudo, após arejamento, o ferro fica na sua forma oxidada, férrica Fe (III), originando combinações insolúveis com o ácido fosfórico ou com taninos que precipitam e causam turvações.

Por sua vez, o cobre presente no vinho poderá provir da própria uva e acima de tudo, advir de tratamentos criptogâmicos. Nestes processos, o cobre é utilizado sob a sua forma iónica que apresenta elevada capacidade de ser assimilada (Vasconcelos & Azenha, 2001). Durante a conservação, os teores de cobre de um vinho podem aumentar se este contactar com materiais de cobre e, no caso de vinhos licorosos, através da aguardente selecionada (Almeida, et al., 1994).

A casse cúprica ocorre quando o vinho apresenta concentração superior a 1mg/L de cobre, ambiente redutor, na presença de proteínas e na presença de anidrido sulfuroso ( $H_2S$ ) livre sob a forma de combinações insolúveis que precipitam e turvam o vinho originando um depósito castanho-avermelhado. Este fenómeno de turvação é acelerado pela luz e por temperaturas elevadas.

## E. Estabilidade tartárica

O ácido tartárico é um ácido constituinte das uvas, não volátil e sem odor, e é encontrado no vinho a concentração entre os 2 a 6g/L. O hidrogenotartarato de potássio (KHT) e o tartarato neutro de cálcio (TCa) são as principais formas encontradas quando há formação de depósito de cristais em vinhos em envelhecimento e vinhos prontos (P. Ribéreau-Gayon, et al., 2000). O pH e o teor alcoólico do meio têm grande influência na precipitação destes sais. Assim, quanto mais elevada a concentração de etanol, menor a solubilidade do KHT e o pico de precipitação verifica-se a um pH de 3,7 (Flanzy, 1998; Lubbers, et al., 1993; P. Ribéreau-Gayon, et al., 2000).

A instabilidade do TCa é menor que a do KHT, embora este sal seja dez vezes menos solúvel que o KHT (P. Ribéreau-Gayon, et al., 2000). Acrescidamente, a sua precipitação não ocorre a baixas temperaturas e não é influenciável pelo teor em etanol, apenas o pH apresenta certa relevância (Silva, 2011).

## F. Casse proteica

Um dos fatores que poderá afetar a estabilidade de um vinho durante o envelhecimento é a instabilidade proteica, especialmente em vinhos brancos (Hsu & Heatherbell, 1987).

Fatores como a variação do pH, temperatura, teor alcoólico, presença de metais, oxigenação, variação do estado coloidal das partículas e interação com compostos fenólicos são exemplos de fatores intrínsecos e extrínsecos que, dependendo do vinho e da sua estrutura proteica, podem causar uma lenta desnaturação das proteínas, tornando o vinho turvo (Sarmiento, et al., 2000).

As proteínas de baixo peso molecular, entre os 16 e os 30kDa, e com baixo ponto isoelétrico são as que mais se relacionam com a instabilidade proteica (Mesquita, et al., 2001; Sarmiento, et al., 2000). Destacam-se dois tipos de proteínas envolvidas no fenómeno de turvação/precipitação: as “thaumatin-like proteins” e as quitinases, ambas pertencentes ao grupo de proteínas PR (*pathogenesis-related proteins*) (Jackson, 2008). Estas proteínas formam-se na película do bago, em uvas que foram infetadas ou danificadas durante a vindima, e estão envolvidas no mecanismo de defesa em resposta a ataques fúngicos, de bactérias ou vírus. A instabilidade deste grupo relaciona-se sobretudo com a sua resistência proteolítica, estabilidade em meio ácido e a fraca ligação que apresentam com taninos. Desta forma, conseguem resistir aos processos de fermentação e envelhecimento, desnaturando lentamente e produzindo instabilidade (Silva, 2011).

## II. Capítulo II: Contextualização prática e estudos de turvação

### 1. The Fladgate Partnership e QVB

O grupo *The Fladgate Partnership (TFP)* é um grupo familiar cujo principal negócio, a produção e comercialização de Vinho do Porto, foi iniciado há três séculos, em 1662.

Detentor de algumas das mais antigas e prestigiadas marcas do sector - Taylor's, Fonseca, Croft e Krohn – o grupo está envolvido em todas as fases da produção dos seus Vinhos do Porto, desde o plantio da vinha e cultivo das uvas à elaboração, envelhecimento e engarrafamento dos seus lotes.

É de sublinhar que, atualmente, a TFP e a Taylor's – principal marca do grupo – apresentam como mercado-alvo o mercado externo, sendo que 93% do total de vendas é feito sob a forma de exportação para mais de 100 países (Taylor's, 2017b).

Para além da produção e comercialização de Vinho do Porto, este consórcio familiar dedica-se também à prática de outras atividades comerciais como a hotelaria e o turismo, sendo detentora de uma das mais luxuosas experiências enoturísticas portuguesas, o *The Yeatman*.

Assim, a Companhia divide-se em diversas empresas de menores dimensões, responsáveis por cada uma das áreas de atuação da TFP.

A *Quinta and Vineyard Bottlers, S.A., QVB*, sediada em Vila Nova de Gaia, dedica-se à produção, comercialização, por grosso ou a retalho, importação e exportação, de vinho e quaisquer outras bebidas, incluindo a prestação de serviços conexos com a produção e comercialização de bebidas. Paralelamente, é a empresa responsável pela aquisição, venda, compra para revenda e arrendamento, de bens imóveis ou de quaisquer outros direitos reais, urbanização e loteamento de terrenos, construção, por conta própria ou alheia, exploração e administração de bens imóveis, pertencentes à sociedade ou a terceiros, bem como prestação de serviços conexos com esses bens.

De entre as principais marcas da QVB, daqui em diante, será sempre feita referência à *Taylor's* uma vez que o foco deste relatório se concentra essencialmente na avaliação de Vinho do Porto Tawny desta marca.

## A. Processo de seleção e envelhecimento de Tawny na Companhia

O processo de seleção e envelhecimento do estilo Tawny apresenta algumas características muito peculiares que tornam estes vinhos singularidades no panorama mundial.

De seguida é apresentado o cronograma de operações adotado pela QVB para seleção e envelhecimento de vinhos em ambiente oxidativo.

O novo ano começa, após a vindima, entre março e abril, com a classificação dos vinhos da vindima anterior. Nesta fase, os vinhos são colocados em depósitos de grandes dimensões, geralmente balseiros entre os 15000 e os 20000L, onde ficam durante os quatro anos seguintes, para que se possa promover um envelhecimento oxidativo pouco acelerado.

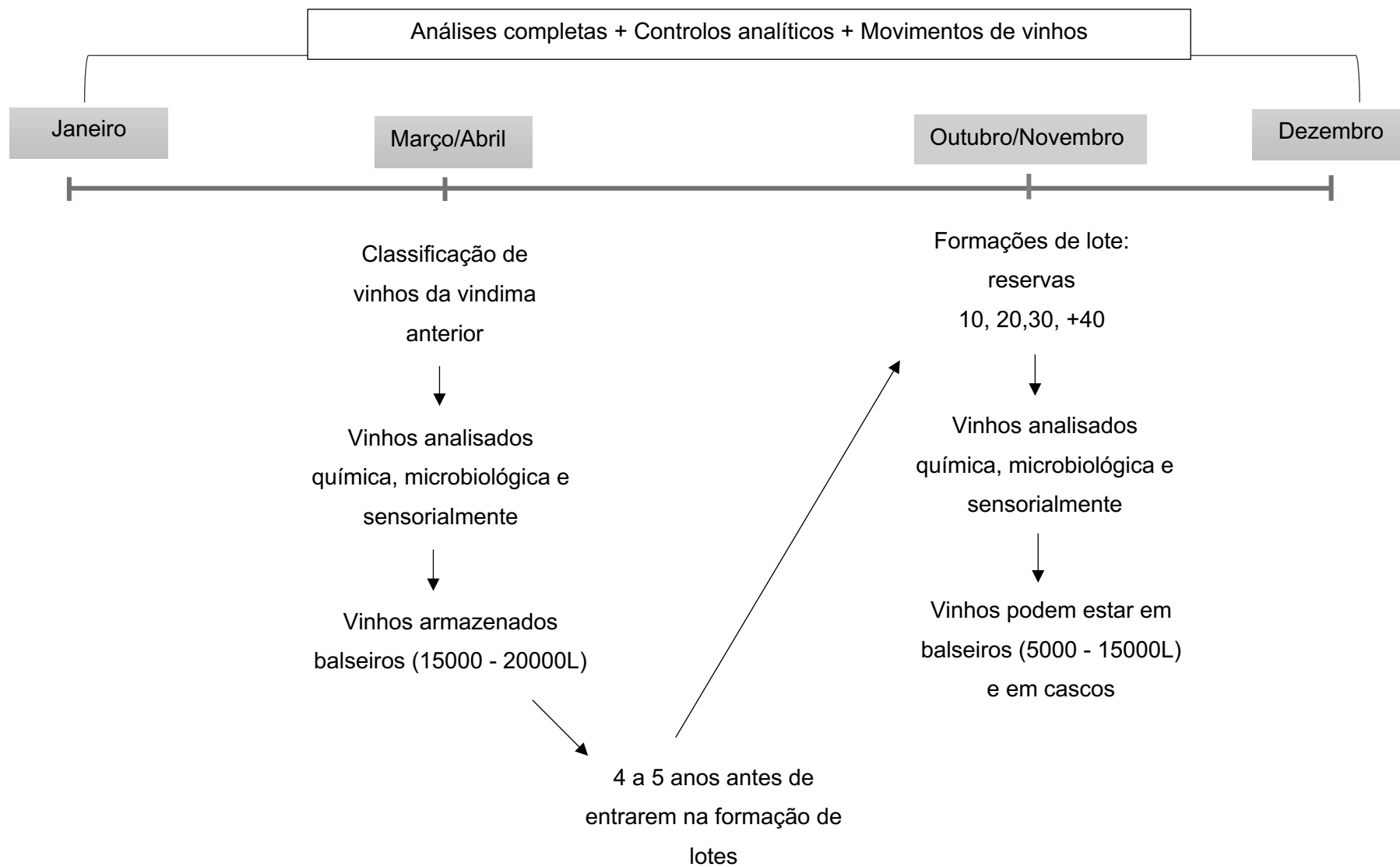
Posteriormente, em outubro/novembro é feita uma avaliação de todo o padrão de vinhos disponível, a partir da qual são tomadas uma série de decisões enológicas que visam, mantendo sempre constante a organoléptica característica, a distribuição dos lotes pelas respetivas categorias de vinho que virão a integrar, sendo elas:

- Distribuição de vinhos em que se quer promover a oxidação por balseiros de menores dimensões (5000 a 7500L) e cascos (550L);
- Aos vinhos mais velhos, que já se encontram em cascos, promove-se o arejamento através da operação de “enferrar cascara” que permitirá um envelhecimento mais rápido, mas sem perda de características.

Nos restantes meses do ano, são vários os tratamentos e análises que são feitos aos vinhos sem que eles sofram qualquer movimentação. Estes procedimentos – a seguir descritos - permitem certificar a segurança e a estabilidade dos vinhos durante o seu longo período de guarda.

Efetivamente, um dos maiores problemas associados a estes movimentos é a falta de mão-de-obra capaz de trabalhar a elevada quantidade de balseiros e cascos em envelhecimento. É desta dificuldade que surge, por parte da Empresa, a necessidade de estruturar e definir a melhor época de movimentação de vinhos, ou seja, a época em que se conseguem movimentar os vinhos sem que apareçam demais obstáculos capazes de influenciar a carga de trabalho dos operários e a análise posterior por parte dos provadores.

Figura 4 - Processo de seleção e envelhecimento de Tawny na QVB



## B. Descrição do mecanismo do controlo analítico e sensorial em Porto Tawny na QVB

O envelhecimento do Porto Tawny é um processo multifatorial, crítico para obtenção de vinhos com a qualidade desejada (Morais, Raul et al., 2018). O tempo necessário para que se atinjam as qualidades sensoriais e cromáticas definidas para este estilo de Vinho do Porto depende de diversos fatores, o que implica a necessidade de um controlo rigoroso durante todo o processo de guarda. Na realidade, cada uma das etapas de envelhecimento deve ser detalhadamente monitorizada, quer por amostragem manual, quer por análise química e sensorial.

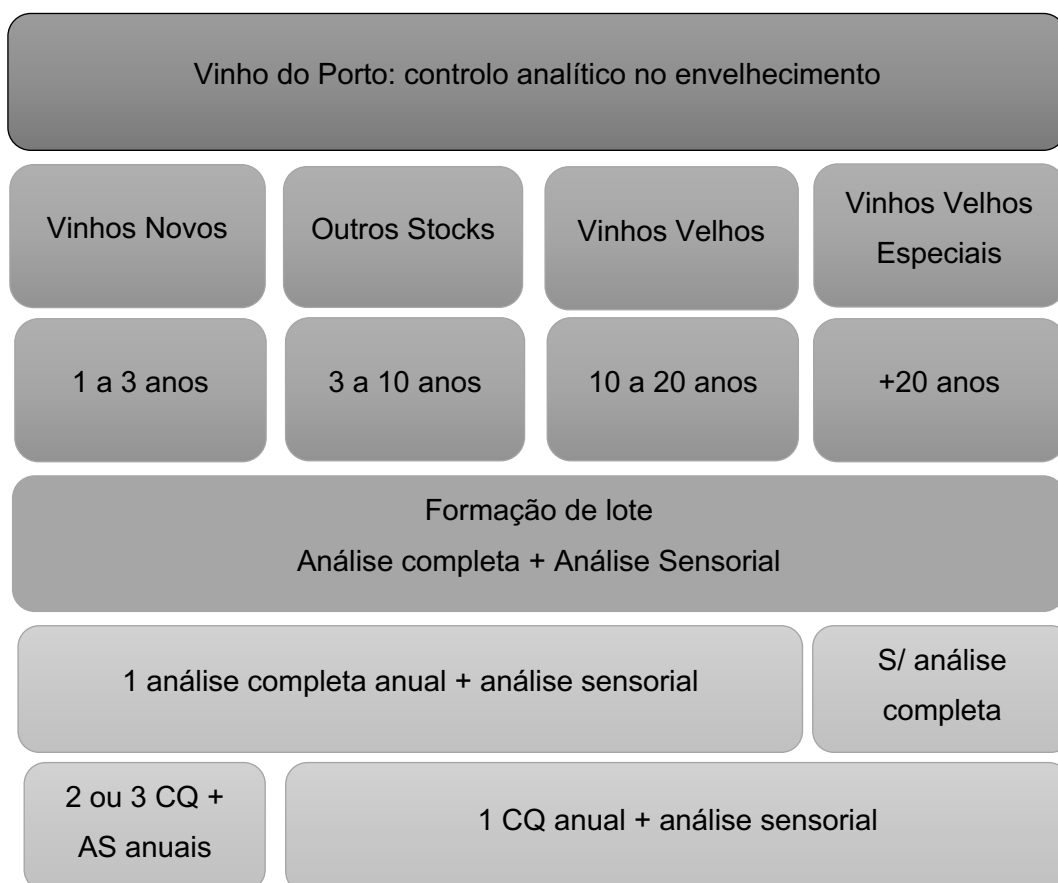
Segue-se, abaixo, um diagrama do mecanismo de análise e monitorização adotado pela QVB para controlo analítico e sensorial de Tawny ao longo do tempo de guarda.

Tabela 2 - Controlo analítico adotado pela QVB para análise de vinhos ao longo do seu envelhecimento

**Análise completa:** álcool provável; grau Baumé; acidez volátil; acidez volátil corrigida; acidez total; concentração de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>); densidade ótica (DO) 520, 420 e 280nm; intensidade da cor; tinta; pH; açúcares redutores; microbiologia e turvação.

**CQ** – Controlo analítico: acidez volátil, microbiologia, pH, SO<sub>2</sub> e turvação

**AS** – Análise sensorial conduzida pelos provadores da Taylor®



Inicialmente, na formação de lote, todos os vinhos são sujeitos a análises completas que englobam os seguintes parâmetros: álcool provável; grau Baumé; acidez volátil; acidez volátil corrigida; acidez total; concentração de dióxido de enxofre; densidade ótica a 520, 420 e 280 nanómetros; intensidade de cor; tinta; pH; açúcares redutores; microbiologia e turvação. Posteriormente, os lotes vão sendo analisados de acordo com as suas características e com os tratamentos a que são sujeitos. Há, no entanto, um esquema-referência a seguir (Tabela 2): durante o ano são realizadas análises completas e controlos de qualidade a todos os lotes existentes.

As análises completas, como acima referido, são análises mais detalhadas de todas as características mensuráveis do vinho. Por sua vez, os controlos de qualidade que depois se seguem são análises menos minuciosas, mas que permitem avaliar a estabilidade química e microbiológica dos vinhos, concentrando-se, por isso, nos seguintes parâmetros: acidez volátil, microbiologia, pH, SO<sub>2</sub> e turvação. É importante ressaltar que, as análises de carácter químico e microbiológico são sempre acompanhadas da análise e avaliação sensorial feita pelos provadores da marca Taylor®.

Assim, os vinhos recentes (com menos de três anos) têm uma frequência de análise muito mais apertada que os vinhos que apresentam a estabilidade, por norma, típica da idade. Os vinhos da vindima do ano anterior são analisados com mais frequência e os vinhos com mais de vinte anos são os que menos análises sofrem.

Aos vinhos da vindima do ano anterior, durante o ano, é feita uma análise completa após a formação de lote e três controlos de qualidade. Aos vinhos com mais de um ano e menos de três, é conduzida uma análise completa anual e dois controlos de qualidade por ano. Por sua vez, os vinhos de “outros stocks”, com idade compreendida entre os três e os dez anos, são analisados duas vezes durante o ano: 1 análise completa anual e um controlo de qualidade. Já aos vinhos velhos, entre os dez e os vinte anos, e os vinhos velhos especiais – com mais de vinte anos – é apenas realizado um controlo analítico anual para perceber se a qualidade do vinho se mantém.

Na impossibilidade de se testarem todos os depósitos de todos os lotes – que acarretaria grande mão-de-obra e tempo, tornando-se impraticável - a Empresa desenvolveu um sistema de rotatividade de análise que permite uma perceção geral do que se passa com o vinho em envelhecimento. Assim, a cada análise, de todos os depósitos constituintes de cada lote, são seleccionados, aleatoriamente alguns, por forma a avaliar a evolução do vinho nos vários parâmetros pretendidos.

## C. Objetivo do trabalho prático

A turvação continua um enigma para a indústria vitivinícola, tornando-se muito difícil a identificação e categorização de turvações de origem desconhecida. Desta forma, o objetivo primeiro deste relatório passa pela identificação de uma turvação desconhecida, de repetição frequente, que se verifica em cascos de Vinho do Porto Tawny, de forma aleatória e despretensiosa.

Assim, este estudo pretende a análise durante um ano, acompanhando as diferentes temperaturas e condições das diferentes estações do ano, de 7 lotes de Reserva Tawny 20 e 3 lotes 30 anos da marca Taylor®, que se encontram armazenados em vários balseiros e cascos distribuídos pelos armazéns da empresa. Pretende-se que o estudo seja representativo das condições de envelhecimento do vinho, em ambiente oxidativo, com temperaturas e teores de humidade variáveis. As turvações encontradas em nada afetam o consumidor, uma vez que se tratam de alterações pré-engarrafamento, mas condicionam os trabalhos da Companhia. Por fim, pretende-se também que deste relatório resulte uma escala de turvações que permita distinguir entre valores conformes e não conformes, associada a um conjunto de medidas e boas práticas que visem diminuir a incidência deste fenómeno.

## D. Materiais e Métodos

### D.1. Vinhos e Amostragem

Os vinhos selecionados para estudos de turvação compreendem uma vasta gama de Reserva Tawny, da marca Taylor®, com idades compreendidas entre os 10 e os 40 anos.

Neste estudo, numa fase inicial, foram analisados e sumariados os valores de turvação observados para cada um dos vinhos, desde a sua formação de lote até ao presente momento, incluindo todas as análises completas e controlos analíticos efetuados ao longo dos anos. A Tabela 3, abaixo apresentada, descreve a quantidade total de vinhos analisados, e a sua distribuição por cada uma das subcategorias.

Encontram-se anexados a este documento os ficheiros correspondentes à análise de todos os lotes aqui mencionados.

Tabela 3 - Número total de lotes em estudo: Reserva Tawny Taylor® entre os 10 e os 40 anos

<b>Tipo de vinho</b>	<b>Total lotes</b>
<b>Reserva 10 anos</b>	16
<b>Reserva 20 anos</b>	48
<b>Reserva 30 anos</b>	20
<b>Reserva 40 anos</b>	18
	<b>102</b>

Analisaram-se e trataram-se estatisticamente os dados e mediante os resultados, que serão apresentados e discutidos posteriormente neste trabalho, foram selecionados 7 lotes de Reserva Tawny 20 anos e 4 lotes Reserva Tawny 30 anos (Tabela 4). Todos os vinhos selecionados têm a particularidade de apresentar turvações recentes bem como turvações repetidas em várias etapas do seu envelhecimento.

Tabela 4 - Lotes de vinhos selecionados com base na análise de resultados de turvação anteriores, desde a sua formação de lote até ao momento

Subcategoria	Lote	Depósito	Identificação depósito
<b>20 anos</b>	01*4162	Balseiro	90364/AG23
	01*3539	Balseiro	90184/90245
	01*4151	Casco	2833/5609
	01*2146	Casco	4445/15588
	01*3752	Casco	4171/3285
	01*0593	Casco	4707/3522
	01*3751	Casco	9965/5100
<b>30 anos</b>	01*4084	Casco	5512/20410
	01*3733	Casco	3258/2755
	01*3563	Casco	117049/16753
	01*0979	Casco	5336/20146

## D.2. O laboratório

A componente laboratorial deste estudo foi conduzida no Laboratório da Área Técnica da QVB, em Vila Nova de Gaia, com o auxílio e participação das Técnicas de Laboratório da Empresa. É importante salientar que todas as amostras utilizadas são recolhidas por diferentes funcionários de armazém, dependendo do dia e da hora de recolha e do armazém onde se encontram os depósitos.

## D.3. Estudos de turvação – metodologia

### *D.3.1. Delineamento Experimental para verificação de turvação*

Como já referido, como se tratam de vinhos em envelhecimento e não prontos, o aparecimento de turvação pode prender-se com diversos fatores tanto intrínsecos como extrínsecos.

Assim, e tendo em conta que este estudo visa a identificação de uma turvação de origem desconhecida, começou por se traçar um plano de ação que pretende a avaliação do comportamento dos vinhos ao longo de um ano do seu período de guarda, de modo a perceber se há influência das diferentes temperaturas e teores de humidade que se fazem sentir em cada estação.

Esta processo decorrerá num longo período temporal e compreenderá:

- Interrupção dos trabalhos nestes vinhos, inutilizando-se os depósitos selecionados durante um ano consecutivo, sem que sejam feitos quaisquer movimentos ou tratamentos aos vinhos, a menos que extremamente necessário;
- Recolha de amostras e registo das condições de humidade e temperatura dos armazéns, de dois em dois meses, conforme indicado no cronograma abaixo apresentado (Tabela 5);
- Elaboração de protocolos de standardização de amostras, tanto a nível de recolha no armazém como de posterior análise no laboratório;
- Campanha de sensibilização dos trabalhadores para promoção de melhores práticas nos armazéns e que visem a redução de borra nas amostras recolhidas;

*D.3.2. Método utilizado pela QVB para determinação de turvação por nefelometria: Método OIV-MA-AS2-08 (OIV, 2000).*

No presente método utiliza-se um nefelómetro incorporado com feixe duplo com compensação ótica.

Este tipo de instrumento possibilita a compensação de troca eletrónica, variações de voltagem principal, e, em parte, da coloração do vinho. Paralelamente, permite também uma calibração muito estável. Deve, no entanto, notar-se que este método não permite a utilização e comparação de dados de outras fontes, tornando-se impossível a colaboração com outros laboratórios.

Assim, os resultados têm um propósito unicamente informacional, e devem ser analisados com precaução.

Acima de tudo, esta técnica é utilizada na fase de produção, onde se torna o critério mais objetivo da análise de limpidez.

Uma vez que se trata de um método que não pode ser legalmente validado, é classificado como classe IV.

### **1. Calibração com Solução Padrão de Formazina**

- Juntar 5mL de solução A<sup>1</sup> e 5mL de solução B<sup>1</sup>. Depois de 24h a 25°C ± 3°C diluir a solução com água para volume de 100mL. A turbidez deste padrão é de 400NTU e tem viabilidade de 4 semanas quando mantida no escuro e a temperatura ambiente;

- Diluir solução com água destilada na proporção de 1/4000 para obter turvação de 1NTU. Esta solução dura apenas uma semana, nas condições ideais de armazenamento.

**Nota<sup>1</sup>:**

- **Solução A:** 10.0g de tetramina de hexametiletileno,  $(\text{CH}_2)_6\text{N}_4$ , dissolvida em água destilada e perfazer volume de 100mL com água destilada.

- **Solução B:** 1.0g de sulfato de hidrazina,  $\text{N}_2\text{H}_6\text{SO}_4$ , dissolvido em água destilada e perfazer volume de 100mL com água destilada.

## 2. Medições

- A temperatura de funcionamento deve manter-se entre os 15° e os 25°C, tendo em consideração a temperatura da amostra de vinho que se pretende medir. Previamente à medição da amostra, homogeneizar cuidadosamente a amostra e o frasco de amostra sem movimentos abruptos capazes de criar emulsão;
- Lavar cuidadosamente, duas vezes, o frasco de amostra com a amostra do vinho a analisar;
- Encher o frasco evitando ao máximo criar turbulência no fluxo do líquido, impedindo a formação de bolhas de ar;
- Aguardar que o valor no mostrador estabilize;
- Anotar resultado obtido;
- Repetir, sempre, o ensaio no caso de resultados discrepantes;
- Pedir nova amostra no caso de resultados discrepantes após repetição do ensaio.

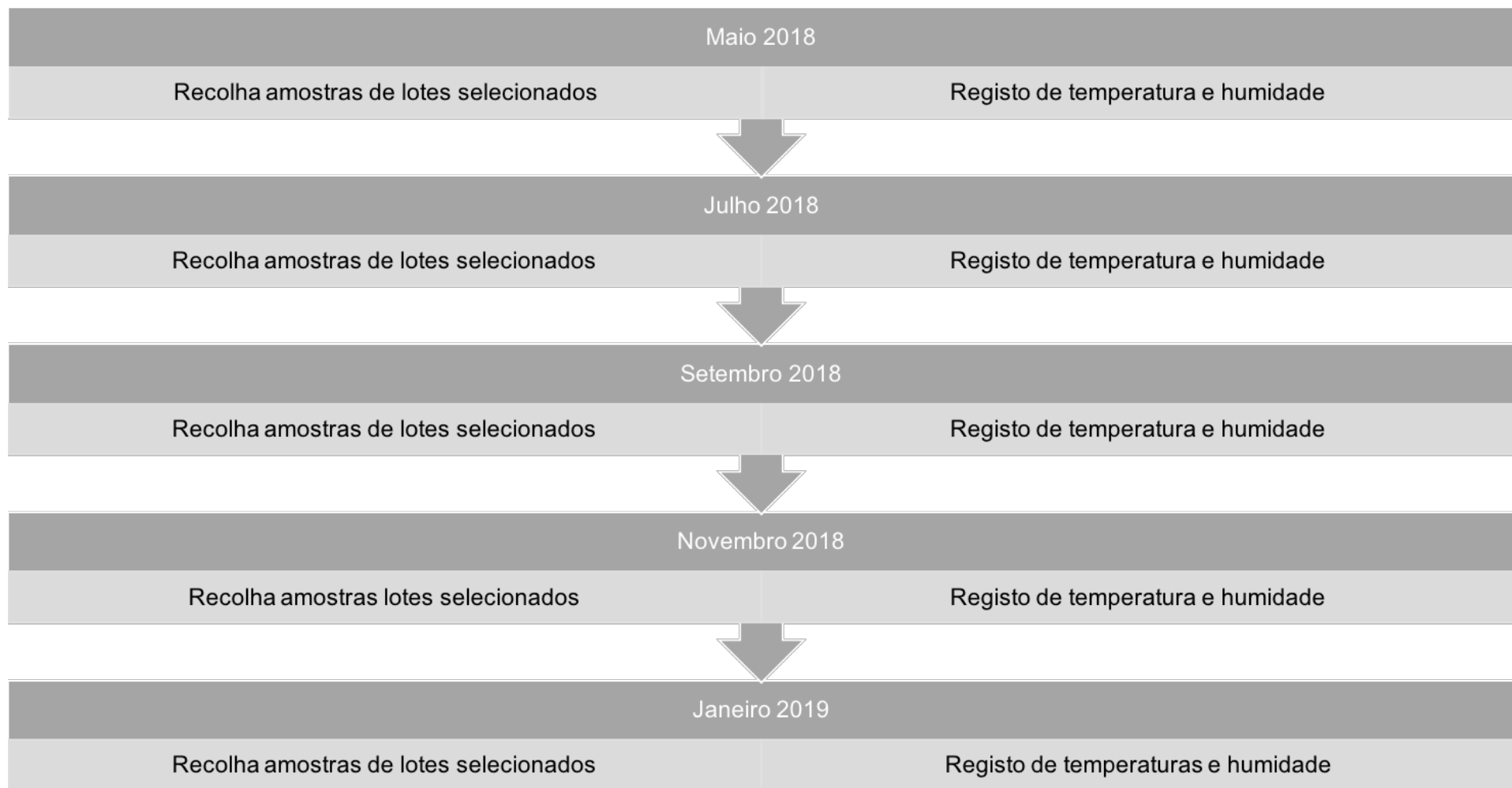
Os resultados são expressos em NTU de acordo com as seguintes características:

- Se turvação menor que 1 NTU, arredondar valor para 0,01NTU
- Se turvação entre 1 e 10NTU, arredondar valor para 0,1NTU
- Se turvação entre 10 e 100NTU, arredondar para 1NTU.

Copiei esta informação de um procedimento elaborado pela OIV e estava descrito desta forma

Por último, é importante sublinhar que apesar do método ser apenas de carácter informativo e não apresentar oficialmente qualquer valor no que concerne à reprodutibilidade, a Empresa postulou que, para a mesma amostra, diferenças superiores a 10NTU, correspondem a uma diferença significativa, passando a ser consideradas turvações diferentes.

Tabela 5 - Cronograma de recolha de amostras de lotes selecionados para estudo de turvação nas diferentes épocas do ano, atendendo às diferentes condições de humidade e temperatura que se fazem sentir em cada estação



## E. Resultados e Discussão

### *E.1. Levantamento de dados*

Foi selecionado, inicialmente, um conjunto de lotes representativo de cada subcategoria, por forma a permitir uma visão global de todos a gama Reserva Tawny em envelhecimento. Assim, este estudo iniciou-se com a análise de 102 lotes com idades compreendidas entre os 10 e os 40 anos, da marca Taylor®. Fez-se o levantamento de todas as avaliações de turvação realizadas em cada um dos lotes – documentos anexos a este ficheiro – ao longo dos anos, tanto em AC como em CQ.

Para cada um dos lotes, foram identificados os valores de turvação que se encontravam em desacordo com os restantes e que, aparentemente, não tinham qualquer justificação. Por outro lado, foram descartados todos os valores de turvação que apesar de discrepantes tinham um motivo explícito. Este motivo está, na maioria dos casos, fortemente relacionado com a realização de certas operações nos vinhos que promovem a sua movimentação, como é o caso das trasfegas, do “enferrar cascaria” (arejamento) e das tiragens em limpo (remoção de borras), que quando efetuadas com má qualidade, associam sempre grande risco de turvação.

A Tabela 6, abaixo reproduzida, é um quadro-resumo de todos os lotes examinados. Durante a pesquisa, procurou distinguir-se valores de turvação irregulares, turvações recentes situações de turvação única e turvações recorrentes. Assim, as turvações recentes (TR) referem-se às amostras em que foram verificados valores de turvação irregulares desde o ano de 2016 até à última data de análise efetuada. Por sua vez, as turvações únicas (TU) correspondem a momentos de turvação irregulares verificados apenas uma única vez ao longo do histórico de análise dos lotes em estudo. Finalmente, RT, repetição de turvação, refere-se à verificação de vários momentos de turvação ao longo do histórico de turvação dos lotes em análise.

Através da análise da tabela, podemos concluir que dos 102 lotes em estudo, 48 lotes apresentaram pelo menos um momento de turvação, representando um total 47% de turvação. De forma mais particular, foi nas subcategorias Reserva 10 e 20 anos que este problema se verificou com maior intensidade, apresentando percentagens de turvação na ordem do 37,5 e dos 60,4%, respetivamente.

Relativamente às percentagens de turvações recentes, dos 48 lotes que apresentaram turvação, foram verificadas situações irregulares recentes em 41, perfazendo uma percentagem total de mais de 85%. Das subcategorias em estudo, destacam-se, com maiores percentagens de turvações recentes, os Reserva 10 e 40 anos com 83% e o Reserva 20 com 93%.

Por fim, foi também analisada a percentagem de repetição de turvação, ou seja, foram contabilizados os lotes com mais que uma situação de turvação irregular. Dos dados analisados percebemos que cerca de 58% do total de lotes apresentaram situações repetidas de turvação. Deste total, os Reserva 20 e 40 anos apresentam as maiores percentagens de repetição, com 65,5 e 66,7%, respetivamente.

Tabela 6 – Tabela-resumo do levantamento de dados relativo às análises de turvação de anos anteriores, desde a formação de lote até ao momento atual. Foram analisados no total 102 lotes, divididos por 4 subcategorias do estilo Tawny.

Legenda:

TL: total de lotes      LT: lotes com turvação      %T: percentagem de turvação  
 TR: turvações recentes      %TR: percentagens de turvações recentes  
 TU: turvação única      %TU: percentagem de turvação única  
 RT: repetição de turvação      %R: percentagem de repetição

Tipo de vinho	TL	LT	%T	TR	%TR	TU	%TU	RT	%R
<b>Reserva 10 anos</b>	16	6	37,5	5	83,3	4	66,7	2	33,3
<b>Reserva 20 anos</b>	48	29	60,4	27	93,1	10	34,5	19	65,5
<b>Reserva 30 anos</b>	20	7	35,0	4	57,1	4	57,1	3	42,9
<b>Reserva 40 anos</b>	18	6	33,3	5	83,3	2	33,3	4	66,7
	102	48	47,1	41	85,4	20	41,7	28	58,3

O levantamento de dados ficou, por fim, concluído com a escolha de alguns dos lotes que apresentaram turvação para integrar o estudo a desenvolver neste projeto.

Das subcategorias Tawny, decidiu trabalhar-se com Reservas 20 e 30 anos. Os 20 anos foram escolhidos pois foi esta a subcategoria onde se verificaram as percentagens de turvação mais elevadas, bem como turvações recentes e múltiplas. Por outro lado, a escolha dos Reserva 30 anos não se prendeu unicamente com as percentagens de turvação. Apesar de 35% dos lotes 30 anos apresentarem turvação, e entre estes mais de 57% apresentar turvação recente e quase 43% apresentar turvações múltiplas (turvações repetidas), esta subcategoria não se afirmou como a maior portadora de anomalias. É, no entanto, uma subcategoria de mais fácil maneiio, uma vez que são menos as operações de trabalho anuais a si associadas.

A tabela abaixo descreve pormenorizadamente os lotes em estudo, incluindo a subcategoria a que pertencem, o tipo e o número de depósito, e qual a data da última movimentação destes

vinhos. Todos estes fatores são merecedores de menção pois explicarão e influenciarão sobremaneira alguns dos resultados de turvação obtidos. O tipo de depósito prende-se essencialmente com o volume que comporta e com o método e local de recolha da amostra. Nos balseiros, a recolha da amostra é feita a partir da torneira da escala. Esta torneira, pode encontrar-se a diferentes alturas em diferentes balseiros. Assim, em balseiros onde a torneira se encontra perto da base - mais perto das borras - é muito possível que se recolham amostras com depósito que após remexido ficará em suspensão, contribuindo para a turvação atípica encontrada. Por sua vez, a recolha de amostras em cascos encontra-se mais padronizada. Foi criado um aparelho que faz a recolha das amostras sempre à mesma altura, impedindo o surgimento de borras nas amostras analisadas. Os fenómenos de turvação atípica em cascos são menos comuns, mas continuam a verificar-se, sendo o principal foco da Empresa, com a realização deste trabalho, encontrar a sua causa.

Por último, é importante saber qual a última movimentação que foi feita a esse vinho, por forma a perceber se há alguma justificação para o surgimento de turvações, como o caso de arejamentos e tiragens em limpo para remoção de borras.

Tabela 7 - Lotes selecionados para estudo de turvação após análise estatística. Indicação do tipo e localização dos depósitos a analisar e data da última operação realizada.

Subcategoria	Lote	Tipo de depósito	Depósito	Último movimento
20 anos	01*4162	Balseiro	90364	30/01/18
		Balseiro	AG23	
	01*3539	Balseiro	90184	30/06/17
		Balseiro	90245	
	01*4151	Balseiro	2833	11/09/17
		Balseiro	5609	
	01*2146	Casco	4445	12/04/17
		Casco	15588	
	01*3752	Casco	4171	19/06/16
		Casco	3285	
01*0593	Casco	4707	26/09/16	
	Casco	3522		
30 anos	01*3751	Casco	9965	19/09/16
		Casco	5100	
	01*4084	Casco	5512	31/08/16
		Casco	20410	
	01*3733	Casco	3258	19/05/17
		Casco	2755	
	01*3563	Casco	17049	23/05/17
		Casco	16753	
	01*0979	Casco	5336	15/07/16
		Casco	20146	

## *E.2. Estudos de turvação: análise bimestral*

Conforme indicado na descrição de métodos, foi elaborado um plano de análise bimestral que pretende a avaliação dos lotes selecionados durante todas as estações do ano (Tabela 5). Assim, o estudo iniciou-se em maio, mês correspondente à primavera, com índices de temperatura e humidade a rondar os 14°C e os 70%, respetivamente, e pretende-se que termine em janeiro, mês correspondente ao pico do inverno, quando se registam as condições meteorológicas mais extremas.

As primeiras amostras foram recolhidas no dia 24 de maio, durante o período da manhã, altura em que se registavam, em Vila Nova de Gaia, temperatura na ordem dos 19°C e humidade relativa de cerca de 70%. A sua análise, no entanto, foi apenas conduzida no dia 28 de maio, ficando, até então, as garrafas em espera na sala de amostras.

Os resultados obtidos, descritos na tabela abaixo representada (Tabela 8), mostram-se, regra geral, normais. Ou seja, a maioria dos depósitos analisados apresenta turvações mais baixas ou na mesma gama das análises realizadas anteriormente.

- Lotes 01\*3751 e 01\*3752 – 20 anos – assim como todos os lotes 30 anos (01\*4084; 01\*3733; 01\*3563 e 01\*0979) apresentaram, para todos os depósitos em estudo, turvações dentro do previsto, ou seja, dentro da gama de valores exibidas na última análise realizada antes do começo deste estudo.
- Relativamente aos lotes 01\*4151 e 01\*0593, apesar de terem sido verificados aumentos de turvação para os todos depósitos em estudo, estes foram considerados normais pois estão associados a operações de movimentação de vinhos.
- O lote 01\*4151 sofreu uma operação de movimentação do vinho de balseiros para cascos. Ora, esta movimentação ainda que realizada com cuidado, na maior parte das vezes, associada a aumentos de turvação, por movimento de borras depositadas que passam a ficar em suspensão.
- Aos depósitos do lote 01\*0593 foram feitas “tiragens em limpo”, ou seja, o vinho foi trasfegado para outros depósitos e foram retiradas as borras dos depósitos originais. Mais uma vez, esta operação está também associada à movimentação de vinhos e de borras já sedimentadas. Assim, na trasfega do vinho, poderá também movimentar-se borras que ficarão em suspensão, aumentando a turvação.

Há, no entanto, alguns valores que se destacam negativamente: registaram-se turvações atípicas em 3 dos 11 lotes em estudo. Destes, 2 correspondem a vinhos em balseiros e apenas 1 a vinho em cascos, todos eles da subcategoria 20 anos.

- O lote 01\*4162 apresenta uma enorme discrepância de turvações entre os dois balseiros em estudo. Se um dos balseiros, o 90364, apresenta turvação elevada (210NTU) e superior à sua última análise (173NTU), a 22 de fevereiro, o balseiro AG23, por sua vez, apresenta turvação muito baixa (26,6NTU), tanto em relação à última análise (180NTU) como em comparação com outro balseiro em estudo;
- Do lote 01\*3539 também se analisaram dois balseiros, o 90184 e o 90245. Os resultados obtidos mostraram um aumento da turvação para os dois depósitos em relação às análises anteriores - efetuadas a 18 de maio -, de 291 para 392NTU e de 206 para 444NTU, respetivamente;
- Ao lote 01\*2146 está associado o estudo de dois cascos para os quais também se verificou um aumento de turvação de uma análise para outra. Na última análise, efetuada a 22 de dezembro de 2017, os valores de turvação situavam-se nos 112NTU para o casco 4445 e nos 120 para o casco 15588. Ora, na análise de 28 de maio estes cascos apresentavam turvações na ordem dos 128 e 146NTU, respetivamente.

Com base nestes resultados, foi pedida uma repetição das análises destes lotes. Desta forma, no dia 29 de maio, durante a manhã, foram recolhidas novas amostras. Neste dia, verificavam-se em Vila Nova de Gaia temperaturas na ordem dos 15°C e teores de humidade de cerca de 90%. Novamente, os resultados obtidos foram recebidos com alguma estranheza. Os lotes mantiveram as suas turvações elevadas e alguns apresentaram ainda valores mais elevados.

- O lote 01\*4162 revelou valores mais baixos de turvação para os seus dois balseiros. O 90364 apresentou turvação de 129NTU enquanto o AG23 registou 10,6NTU. Portanto, verificou-se uma diminuição da turvação face aos resultados anteriores. Há, contudo, um fator causador de grande inquietação: a grande discrepância entre os dois balseiros em estudo. Apesar de terem o mesmo vinho em envelhecimento, apresentam diferenças na ordem das dezenas de unidade de turvação. Como referido anteriormente, os motivos para esta discrepância poderão, essencialmente, dever-se à capacidade dos balseiros e ao local de recolha da amostra. No entanto, apenas no final do estudo, com a avaliação de análises posteriores se poderão tirar conclusões.

- A repetição das análises para os dois depósitos do lote 01\*3539 encontrou também diferentes resultados. Em relação ao balseiro 90184, este apresentou um aumento de turvação de 392 para 430NTU. Por sua vez, o balseiro 90245 viu a sua turvação aumentar de 444 para 499NTU. Seguindo a linha de raciocínio utilizada para o lote anterior (01\*4162), pode tentar justificar-se este aumento de turvação, com o local de recolha da amostra (altura da torneira de escala) e com o aumento de borra dos depósitos. Contudo, foram muito poucos os dias que separaram as duas análises, desacreditando um pouco esta hipótese. Outro fator que poderá promover este aumento de turvação, poderá relacionar-se com a o aparelho de turvação e com a robustez do método. Outras conclusões poderão unicamente ser retiradas no decorrer do ano, com os resultados das análises seguintes.
- Por último, o lote 01\*2146 apresenta também, para os dois depósitos, valores discrepantes. Em relação às análises de 28 de maio, verificou-se um aumento de turvação nos depósitos em estudo. Para o casco 4445 a turvação subiu de 128 para 144NTU e o casco 15558 aumentou a turvação de 146 para 168NTU. Como se tratam de cascos, em que o método de recolha de amostra se encontra estandardizado, é mais difícil encontrar explicações para o aumento de turvação encontrado. Neste caso, as análises seguintes serão de extrema importância para a avaliação do comportamento do vinho, para que se perceba se este aumento de turvação é ou não fruto de influência climática.

Estes resultados foram registados e serão posteriormente analisados por comparação com os restantes, mas há uma questão que se deve manter em foco: o mês de maio de 2018 foi irregular e as amostras foram recolhidas em dias de temperaturas baixas e elevados teores de humidade.

Por hora, nada mais se poderá fazer senão o registo dos valores obtidos. As conclusões quanto à origem da turvação mantêm-se ainda uma incógnita, sendo apenas possível levantar hipóteses e conjeturas. Só com os restantes resultados, analisando o comportamento dos lotes ao longo do ano, se poderá perceber se a turvação está ou não associada às condições meteorológicas e/ou a recolha de amostras e posteriores análises deficitárias.

Tabela 8 - Análises do mês de maio – início do estudo – e última análise efetuada antes do início do estudo. Foram também registados os valores de temperatura e humidade do dia em que foram recolhidas as amostras para análise.

Subcategoria	Lote	Tipo de depósito	Depósito	Última análise Turv NTU	Data última análise	24/05/18 Turv NTU	Obs	T°C	H%	Repetição (29/05) Turv NTU	Obs	T°C	H%					
20 anos	01*4162	Balseiro	90364	173	22/02/18	210	Repetição	19	70	129	15	90						
		Balseiro	AG23	180		26,6				10,9								
	01*3539	Balseiro	90184	291	18/05/18	392				430								
		Balseiro	90245	206		444				499								
	01*4151	Balseiro	2833	p/cascos	P/cascos	46,6	transferência p/cascos			–				–				
		Balseiro	5609	p/cascos		28,2				–				–				
	01*2146	Casco	4445	112	22/12/17	128	Repetição			144								
		Casco	15588	120		146				168								
	01*3752	Casco	4171	25,3	12/09/17	8,97	–											
		Casco	3285	55,7		8,74												
	01*0593	Casco	4707	44,0	05/12/17	83,3	Tiragem em limpo											
		Casco	3522	44,0		82,2												
01*3751	Casco	9965	30,8	16/03/18	9,9													
	Casco	5100	10,9		9,89													
01*4084	Casco	5512	158	16/02/17	9,19		–	–										
	Casco	20410	41,4		9,36													
01*3733	Casco	3258	14,0	28/08/17	12,9		–											
	Casco	2755	18,0		12,9													
01*3563	Casco	17049	25,1	04/01/18	13,9													
	Casco	16753	24,0		13,9													
01*0979	Casco	5336	7,64	08/01/18	5,27													
	Casco	20146	8,98		5,61													

### *E.3. Elaboração de nova metodologia de análise: adaptação de método anterior*

Conforme descrito previamente neste Relatório (Materiais e Métodos) o método utilizado para medição de turvação é o Método OIV-MA-AS2-08. Trata-se de um método do tipo IV, ou seja, um método que não pode ser validado de acordo com critérios de seleção internacional e que é utilizado apenas para propósitos informacionais durante as fases de produção e armazenamento de vinho.

Portanto, a este método não se lhe permite a comparação com outros e os resultados obtidos poderão ter interpretações dúbias, dependendo do analista e da circunstância em que são avaliados.

Até então, o método descrito tem sido utilizado pela Empresa de forma legítima e seguindo todos os parâmetros aconselhados pela OIV. Entretanto, com a elaboração deste Relatório, foram-lhe feitos alguns ajustes para que se interpretem, com mais rigor, os resultados obtidos. As alterações efetuadas já constam do procedimento previamente descrito neste Relatório e serão explicadas pormenorizadamente aos longo dos parágrafos seguintes.

Desta forma, e com base no problema de turvações que a Empresa apresenta, foram sugeridas algumas medidas e comportamentos que procuram colmatar lacunas verificadas durante a análise de turvação. Assim,

- Sugere-se que as amostras sejam analisadas o mais rápido possível, sem que estejam a aguardar por tempo demasiado na Sala de Amostras, evitando a sua sujeição a variações de temperatura e tentando mimetizar as condições de envelhecimento do vinho;
- Sabendo da grande quantidade de depósitos que cada lote apresenta, compreende-se o sistema de rotatividade de análise praticado pela Empresa. No entanto, seria interessante fixar dois depósitos para observação permanente, permitindo o acompanhamento dos mesmos a cada análise e, enfim, uma visão mais detalhada do processo evolutivo do vinho.
- Durante a aplicação do método, em caso de resultados estranhos e discrepantes, ou seja, no caso de turvação superior à apresentada na análise anterior (sem que tenha sido efetuado qualquer movimento no vinho), repetir o procedimento para despistar erros subjacentes ao aparelho;
- Durante a aplicação do método, caso os resultados se mantenham após repetição do procedimento, pedir nova amostra ao armazém para desconsiderar possíveis erros de amostragem;

- Em caso de anomalia nos resultados, analisar restantes parâmetros de análise e perceber se há alguma alteração ao nível da composição fundamental do vinho;
- Recomenda-se também que paralelamente a este Relatório se desenvolva um estudo de escalonamento de turvações consoante o tipo de vinho e a idade que apresenta, de modo a perceber se há um padrão de turvações que se repita.

#### *E.4. Campanha de sensibilização para funcionários de armazém*

Sabe-se que grande parte da turvação encontrada nas análises avaliadas poderá ter origem em erros de amostragem. O objetivo deste trabalho passa precisamente pela identificação de turvação que surja naturalmente no vinho, sem a ocorrência de qualquer revés humano. Assim, torna-se preponderante a eliminação de quaisquer ações que possam influenciar o seu surgimento.

Deste Relatório surgiu a criação de uma campanha de sensibilização que visa a reeducação dos funcionários para a execução de boas práticas do armazém, assegurando a higiene, a segurança e a qualidade produto amostrado.

A campanha engloba um conjunto de regras e recomendações, numa linguagem prática e universal, que deverá ser cumprido, obrigatoriamente, na Empresa, por todos os funcionários, por forma a garantir a qualidade do trabalho efetuado e, posteriormente, melhores resultados nas análises efetuadas a jusante da recolha de amostras.

Este código de conduta pretende:

- Complementar planos de segurança e qualidade já implementados pela Empresa, de forma a contribuir para a eficácia dos funcionários;
- Orientação de procedimentos de colheita, identificação, acondicionamento e transporte de amostras para análise de qualidade;
- Definição de linhas gerais de atuação no caso de resultados não conformes.

O conjunto de regras delineado inclui apenas o processo de recolha de amostras e especificamente a recolha de amostras para análise de turvação. Assim, para a colheita de amostras:

- O ambiente deve ser calmo, limpo, sem correntes de ar e grandes variações de temperatura e humidade;
- Roupas e mãos limpas. As mãos não devem contactar com o produto para recolha;
- O recipiente para onde é colhida a amostra (garrafa) deve estar esterilizado/limpo e deve ser aberto o menos possível e fechado imediatamente após a colheita;
- Evitar movimentos bruscos e forçados capazes de provocar a movimentação do líquido e das borras depositadas;
- No caso de recolha de amostras após operações, especialmente operações de movimentação de vinhos, evitar ao máximo a passagem de borras em conjunto com o vinho trasfegado.

Deve obedecer-se a um conjunto de regras diferentes para recolha de amostras no caso de cascos e vasilhas grandes (balseiros). Deste relatório resultou também uma atualização das instruções de trabalho adotadas pelas Empresa relativamente à tiragem de amostras. A atualização do documento oficial encontra-se anexada a este documento. Assim, seguem-se as normas atualizadas para a tiragem de amostras:

- De cascos:
  1. Verificar que a etiqueta tenha: marca do vinho, nº da vasilha e quantidade em litros;
  2. Verificar se a pipeta está bem lavada;
  3. Ao tirar o batoque, verificar que o casco esteja limpo nessa zona para evitar que a sujidade caia para a garrafa;
  4. Utilizar o aparelho de recolha de amostras desenhado especialmente para recolha de amostras em cascos;
  5. Passar a garrafa por aproximadamente 100mL de vinho;
  6. Usar a garrafa destinada à quantidade pretendida, rolhar e etiquetar;
  7. Recolocar bem o batoque (se necessário substituí-lo);
  8. Lavar os materiais envolvidos;
  9. Assinar a etiqueta da amostra.
- De vasilhas grandes com *torneira de escala alta*
  1. Verificar a etiqueta;
  2. Retirar o vinho que esteja na escala;

3. Lavar o exterior da torneira de escala;
  4. Deixar correr o equivalente a meia garrafa de vinho (375mL);
  5. Passar a garrafa por 100mL de vinho;
  6. Tirar a amostra (rolhar e etiquetar);
  7. Lavar os materiais envolvidos;
  8. Assinar a etiqueta da amostra
- De vasilhas grandes com *torneira de escala baixa*
1. Verificar a etiqueta;
  2. Retirar o vinho que esteja na escala;
  3. Lavar o exterior da torneira de escala;
  4. Deixar correr o equivalente a uma garrafa de vinho (750mL);
  5. Passar a garrafa por aproximadamente 100mL de vinho;
  6. Tirar a amostra, rolhar e etiquetar;
  7. Lavar os materiais envolvidos;
  8. Assinar a etiqueta da amostra.

Anexo a este documento, encontra-se também um Guia de Boas Práticas sob a forma de poster, criado com o intuito de informar os funcionários de armazém de forma leviana e chamativa, sem que se torne mais um documento enfadonho e burocrático. O poster apresenta, de forma resumida, todas as propostas acima apresentadas, facilitando a leitura de quem estiver nas proximidades.

## F. Conclusões e trabalhos futuros

Como se trata de um estudo ainda em desenvolvimento, torna-se impossível inferir quaisquer conclusões acerca das turvações encontradas. Apenas no final do estudo, com a interpretação e análise dos resultados se poderá perceber se as condições atmosféricas, isto é, a temperatura e a humidade, têm alguma influência no surgimento da turvação, ou se essa hipótese terá de ser descartada e serão necessários estudos mais pormenorizados.

Assim, no caso de se verificarem situações de turvação que continuem sem explicação, será da maior importância a realização de análises mais pormenorizadas e específicas. Poderão ter que se realizar, por exemplo, testes de estabilidade e métodos de quantificação de taninos. Os testes de estabilidade são nada mais que ensaios para identificação de alterações que um vinho tenha sofrido, prevendo a sua estabilidade futura. Estes ensaios consistem em colocar o vinho em condições extremas de conservação, tais como variações de temperatura, exposição luminosa e arejamento. De entre os testes de estabilidade, destacam-se:

- Prova do ar;
- Estabilidade cúprica;
- Estabilidade proteica;
- Teste de cálcio;
- Teste de pectinas;
- Teste de glucanas;
- Teste de turvação por oxigenação.

Relativamente aos métodos de quantificação de taninos, estes poderão ser quantificados recorrendo à utilização de dois métodos diferentes:

- O primeiro refere-se à separação e doseamento das proantocianidinas de acordo com o seu grau de polimerização;
- O segundo sustenta-se na despolimerização em meio ácido na presença de tolueno- $\alpha$ -tiol.

Uma vez mais, será importante ressaltar que estas análises representam um aumento da carga de trabalho e uma maior mobilização de trabalhadores, bem como um potencial aumento dos custos associados, devendo apenas ser realizadas no final deste estudo em caso de resultados inconclusivos ou que contestem a tese sugerida neste Relatório.

### III. Capítulo III: Outros projetos

Como elemento absolutamente necessário à vida, a água é um recurso de preço incalculável e que tem vindo, nos últimos anos, a ser alvo de diversas fontes de poluição. Destas, destacam-se as indústrias como as maiores e mais importantes causas de poluição.

Nas últimas décadas, de acordo com Kunukcu (2005), a quantidade de águas residuais que apresentam compostos tóxicos e nocivos tem vindo a aumentar devido ao crescimento tecnológico e industrial. Visto que estes compostos têm efeitos nocivos na biota e a consciência ambiental tem vindo a crescer, têm sido impostas restrições cada vez mais severas na concentração destes compostos nas águas residuais para assegurar uma descarga segura.

Assim, como a empresa se dedica a uma atividade industrial da qual resulta um grande volume de águas residuais, tornou-se imperativa a criação de um documento-resumo que registe quais os principais compostos encontrados em águas residuais, quais as suas bioconcentrações e os principais riscos associados à sua presença.

#### 1. Resíduos de tensioativos em águas residuais

##### A. Processo típico de limpeza e desinfeção

O processo típico de limpeza e desinfeção de equipamentos e superfícies de contacto com géneros alimentícios é um processo líquido que divide-se em três passos fundamentais: limpar, enxaguar, desinfetar.

- Limpar: agentes de limpeza, como detergente da loiça, produzidos com base em detergentes sintéticos, são utilizados para remover sujidade, germes, objetos e impurezas. Os detergentes são atualmente produzidos com a intenção de serem posteriormente enxaguados, assim, uma simples passagem por água é suficiente para prevenir a contaminação dos géneros alimentícios;
- 
- Enxaguar: enxaguamento com água potável remove os agentes de limpeza.
- 
- Desinfeção: desinfetantes são aplicados a superfícies limpas de modo a assegurar a ausência de agentes patogénicos. A desinfeção é o passo de maior escrutínio, uma vez que os produtos utilizados não podem contactar com alimentos.

Os produtos utilizados nestes processos devem estar descritos no plano de manuseamento do utilizador e em concordância com os parâmetros legais exigidos.

## B. Os detergentes

A natureza e a complexidade dos detergentes utilizados dependem da sujidade, da dureza da água, da temperatura e da segurança. Os fornecedores têm geralmente uma variada gama de detergentes capazes de responder a todo o tipo de circunstâncias. A gama de produtos poderá incluir vários tipos de substâncias:

- Detergentes de limpeza/cleaners – quebram proteínas e lípidos para que descolem da superfície. Geralmente cáusticos (Hidróxido de Sódio, Carbonato de Sódio, Percarbonato de Sódio, TriSódioFosfato, Hidróxido de Potássio, Silicato de Sódio);
- Tensioativos: agentes humidificadores que diminuem a tensão de um líquido e ajudam a solubilizar os resíduos a remover;
- Agentes Quelantes: previnem que metais pesados da água reduzam a eficácia dos tensioativos: os metais pesados são rodeados pela estrutura quelante e desativados.

Uma solução de detergente poderá incluir entre 2 e 15 compostos, cuidadosamente selecionados de acordo com a especificação. As variáveis mais importantes que contribuem para a sua eficácia vão desde a sua formulação, concentração, tempo de contato, temperatura, modo de aplicação e tipo de sujidade.

## C. Os desinfetantes

O efeito biocida associado aos desinfetantes pode variar de acordo com os microrganismos e, por consequência, estes produtos devem ser cuidadosamente formulados para garantir a sua eficácia. Desinfetantes bem formulados devem conter diferentes componentes biocidas incluindo tensioativos e agentes quelantes capazes de suportar a sua ação. Estes produtos devem ser escolhidos com base na superfície dos materiais e a especificidade dos agentes patogénicos a controlar. É também importante ter em consideração o ambiente, a temperatura e o tempo necessário para a sua ação.

Em algumas circunstâncias a limpeza e a desinfeção pode ser combinadas numa única operação recorrendo à utilização de um agente com ações de limpeza e desinfeção. No entanto, o mecanismo de duas fases – limpeza e desinfeção separadas – é mais eficaz.

## D. Agentes tensioativos ou surfactantes

Os tensioativos são um grupo diverso de químicos desenhados para promover as suas propriedades de limpeza ou solubilização. São compostos que se acumulam em interfaces

gás/líquido, líquido/líquido e líquido/sólido (van Ginkel, 1996). Para promover esta acumulação, todos os tensoativos apresentam dois componentes distintos na sua estrutura molecular. Um grupo hidrofílico com “cabeça” polar (com ou sem carga), que é facilmente solubilizado em água, e uma “cauda” hidrocarbonatada – grupo hidrofóbico - que não se dissolve facilmente em água (van Ginkel, 1996; G.-G. Ying, 2005).

Podem dividir-se estes compostos químicos de acordo com a natureza da carga do seu grupo polar. Os tensoativos aniônicos têm carga negativa frequentemente associada a um grupo sulfato ou sulfonato. Tensoativos não-iônicos não apresentam grupos com carga iónica e são, na sua grande maioria, produtos de polimerização do óxido de etileno. Por sua vez, os tensoativos catiónicos são caracterizados pela presença de um grupo amónio quaternário que apresenta carga positiva. Finalmente, os tensoativos anfotéricos são caracterizados pela presença de grupos com carga positiva e negativa na mesma molécula (van Ginkel, 1996).

Os surfactantes sintéticos têm grande importância económica e ambiental uma vez que são utilizados numa miríade de indústrias, desde os detergentes de limpeza pessoal, a produtos de higiene, têxteis, tintas, polímeros, pesticidas, farmacêuticos, e outras indústrias. A produção anual de tensoativos ronda os 7.2 milhões de toneladas. São-lhes reconhecidas qualidades como agentes humidificadores e emulsionantes. Concomitantemente, alguns tensoativos são facilmente sorvidos pelas superfícies provocando a sua alteração. Alguns apresentam também atividade antimicrobiana, promovendo a sua utilização como agentes biocidas (G.-G. Ying, 2005).

Assim sendo, e devido ao seu elevado número de aplicações, a maioria dos surfactantes surge nos ecossistemas naturais quer através de descargas de águas residuais (detergentes) ou através de aplicação direta (biocidas).

#### *D.1. Principais tensoativos, bioconcentração e produtos de degradação*

Quando um químico é libertado em conjunto com efluentes de esgoto, a sua distribuição no ambiente divide-se em fases distintas, como a água, o ar, sedimentos e biota. O processo que envolve a transferência direta de químicos da água para a biota é conhecido como bioconcentração e trata-se do processo que mais preocupa a comunidade científica. Em condições de equilíbrio, a bioconcentração é caracterizada pelo fator de bioconcentração (BCF): rácio entre a concentração na biota,  $C_B$ , e a concentração na água,  $C_w$ , i.e.,  $BCF=C_B/C_w$  (van Ginkel, 1996).

Uma vez que o tensoativo deve ser assimilado pelo organismo para surtir algum tipo de efeito, os processos e fatores que influenciam a assimilação são de extrema importância para a avaliação do risco ambiental. Compostos lipofílicos, ou hidrofóbicos, são os mais passíveis de bioacumular.  $K_{ow}$  – lipofilicidade medida em coeficiente de água/octanol – foi considerada a

força motriz da bioconcentração. Assim, a bioconcentração aumenta com o aumento dos valores de  $K_{ow}$  (van Ginkel, 1996).

#### D.1.1. Sulfonatos de alquilbenzeno lineares (LAS)

Compostos longos homólogos de LAS têm maior  $K_{ow}$ . Estes compostos são assimilados da água pelas brânquias (guelras) e não pela pele. De acordo com estudos realizados (G.-G. Ying, 2005), as concentrações de LAS (selecionados para o estudo) no fígado e órgãos internos de trutas jovens aumentam rapidamente, mostrando rápida assimilação na circulação sistêmica. Verificou-se também que a dureza da água influencia o comportamento da fase aquosa dos LAS. Valores de dureza mais elevados conduzem a um maior fluxo de LAS da água para os peixes.

Em ambientes terrestres, os BCFs são significativamente mais baixos que em ambientes aquáticos, tornando a bioacumulação de LAS em biota terrestre altamente improvável (G.-G. Ying, 2005).

#### D.1.2. Etoxilatos de Alquilfenol (APE)

Os alquilfenóis (nonilfenol e octilfenol) são compostos de degradação de uma vasta gama de tensioativos não-iônicos em utilização atualmente, ou seja, os etoxilatos de alquilfenol usados durante o tratamento de águas. Tanto o nonilfenol (NP) como o octilfenol (OP) atraíram a atenção da comunidade científica devido aos seus efeitos estrogênicos e à sua capacidade de bioacumulação em organismos aquáticos. O NP tem um  $\log(Kow)$  de 4.48 e a sua solubilidade em água é de 5.4mg/l, enquanto o OP tem um  $\log(Kow)$  de 4.12 e a sua solubilidade em água é 12.6mg/l (Ahel & Giger, 1993a, 1993b). O perfil físico-químico dos dois compostos indica que podem bioacumular em organismos aquáticos. Os fatores de bioconcentração documentados para peixes variam de 21 a 1300 para o NP e de 267 a 471 para o OP. As diferenças de BCF encontradas para os dois compostos em espécies diferentes podem ser explicadas pelos diferentes metabolismos de cada espécie.

Estudos prévios (Arukwe, et al., 2000) indicam que os alquilfenóis metabolizados são maioritariamente transformados nas suas formas de conjugados de glicuronídeos e em menor extensão em vários compostos hidroxilados e oxidados. A semi-vida dos compostos em carcaças e músculo encontra-se entre as 24h a 48h após a exposição. Ferreira-Leach e Hill (Ferreira-Leach & Hill, 2001) estudaram a bioconcentração e distribuição de OP em trutas jovens. Perceberam que as concentrações eram superiores na biliar, seguida pelas fezes, cego pilórico, fígado e intestinos. Nestes tecidos, grande parte dos alquilfenóis encontravam-se sob duas formas: conjugados glicuronídeos de OP e octilcatecol. O OP foi acumulado como composto parental em tecidos gordos com BCF de 1190, e no cérebro, pele, músculo, osso,

brânquias e olhos com BCF entre os 100 e os 260. Estes valores indicam a rápida conjugação e eliminação destes químicos (APEs) pela via química no fígado, no entanto, elevadas concentrações do composto parental podem acumular em muitos outros tecidos do peixe.

#### *D.2. Biodegradação no ambiente*

A principal via de transformação de tensoativos no ambiente, é a via microbiológica. A biodegradação é um processo importante para o tratamento destas substâncias em estações de tratamento de águas residuais e também na sua remoção do ambiente, diminuindo desta forma o seu impacto na biota. No processo de biodegradação os microrganismos podem utilizar os surfactantes como nutrientes e produzir energia, ou cometabolizá-los. Há muitos fatores com influência na biodegradação de tensoativos, sendo os mais importantes a estrutura química e as condições físico-químicas do meio ambiente. A maioria dos surfactantes pode ser degradada por microrganismos no ambiente, no entanto, outros – como o LAS – podem persistir em condições de anaerobiose.

Tabela 9 - Biodegradabilidade de tensoativos no ambiente (Retirado de: G.-G. Ying (2005))

Tensioativo	Aerobiose	Anaerobiose
LAS	Degradável	Persistente
SAS	Rapidamente degradável	Persistente
Sabonete	Rapidamente degradável	Rapidamente degradável
Ésteres de ácidos gordos (EAS)	Rapidamente degradáveis	Persistentes
AS	Rapidamente degradável	Degradável
Tensioativos catiónicos (ex. DTDMAC)	Degradáveis	Persistentes
APE	Degradável	Parcialmente degradável
AE	Rapidamente degradável	Degradável

### D.2.1. Surfactantes aniónicos

#### **LAS**

Os sulfonatos de alquilbenzeno lineares podem ser degradados por um conjunto de microrganismos e adsorvidos por biofilmes (Yadav, et al., 2001). Os intermediários de degradação dos LAS são ácidos mono- e dicarboxílicos de sulfofenil (SPC) que são formados por  $\omega$ -oxidação do carbono terminal da cadeia alquilo seguida de  $\beta$ -oxidação sucessiva (Di Corcia & Samperi, 1994; Yadav, et al., 2001). De seguida as cadeias SPC são dessulfonadas novamente. A  $\omega$ -oxidação da cadeia alquilo e a quebra do anel benzénico necessitam de oxigénio molecular, portanto, em condições de anaerobiose este mecanismo é impossível.

Devido à remoção incompleta dos LAS em estações de tratamento (M S Holt, et al., 1999), alguns resíduos dos tensoativos em conjunto com os seus intermediários (SPCs) de quebra aeróbica, entram nas águas por descarga de efluentes. A biodegradação de LAS em águas fluviais apresenta tempos de semi-vida de menos de três dias e uma taxa de 99% de eliminação (Perales, et al., 1999). No entanto, em ambiente marinho, a degradação de LAS e dos seus intermediários é mais lenta, devido à menor atividade microbiológica e à associação destes compostos com  $Mg^{2+}$  e  $Ca^{2+}$  (Gonzalo-Mazo, et al., 1997).

Concentrações de LAS em lamas de tratamento de águas são bastante elevadas devido à difusão da sua utilização e à sua capacidade de sorção. De acordo com Jensen (1999) lamas tratadas em aerobiose apresentavam concentrações de LAS na ordem dos 100-500mg/Kg de peso seco. Por sua vez, lamas tratadas em anaerobiose apresentavam concentrações de LAS bastante superiores, na ordem dos 1500mg/Kg de peso seco.

Os sulfonatos de alquilbenzeno lineares são facilmente degradados em solos aeróbicos, apresentando tempos de semi-vida entre os 7 e os 33 dias. Uma vez aplicada a lama aos solos, os LAS são rapidamente metabolizados por bactérias aeróbicas, impedindo assim, a sua acumulação (Berna, et al., 1989; M S Holt, et al., 1989).

#### **AS**

Os alquilsulfanatos (AS) constituem um dos grupos de tensoativos mais biodegradáveis. A sua biodegradação está associada a quebras enzimáticas das ligações éster dos sulfatos, originando sulfato inorgânico e um álcool gordo. O álcool é posteriormente oxidado a aldeído e subsequentemente a um ácido gordo que sofrerá  $\beta$ -oxidação, atingindo, por fim, degradação completa (Thomas & White, 1989). Os AS estão facilmente biodisponíveis tanto em condições de aerobiose como anaerobiose e a sua biodegradação é simples. O tratamento em estações de tratamento pode facilmente remover estes compostos, havendo pouca possibilidade de atingir o ambiente quer por descarga de efluentes quer por aplicação de lamas de tratamento a solos agrícolas.

### D.2.2. Surfactantes catiónicos

Os tensoativos catiónicos sorvem fortemente a partículas em suspensão e a lamas que têm, na sua grande maioria, cargas negativas. Os Compostos de Amónio Quaternário (QACs) são os tensoativos mais utilizados atualmente, tanto na indústria de amaciadores de tecidos, como na produção de desinfetantes.

Na maior parte dos casos, são considerados compostos biodegradáveis em condições aeróbias, no entanto, a sua taxa de biodegradabilidade varia de composto para composto.

Pensa-se que as vias de degradação dos halogentos de alquil trimetil amónio e alquil dimetil amónio se iniciem com N-desalquilação, seguida de N-desmetilação (Nishiyama, et al., 1995). Trimetilamina, dimetilamina e metilamina foram identificados como intermediários de degradação dos sais de alquilmetilamónio em lamas ativadas de tratamento de águas residuais (Nishiyama, et al., 1995). Nestas vias de degradação, a N-desalquilação dos sais origina trimetilamina, que por sua vez é degradada a dimetilamina, com consequente degradação a metilamina - raramente detetada.

Os tensoativos que contêm amónio quaternário têm frequentemente uma forte natureza biocida (Baleux & Caumette, 1997). O tamanho da cadeia alquil não só determina as propriedades físico-químicas dos tensoativos, como poderá também desempenhar um papel fundamental no destino e efeitos destes compostos no ambiente. Em condições de aerobiose, a biodegradabilidade dos QACs geralmente diminui com o número de grupos alquil não-metil (Swisher, 1987).

Contrastantemente, em condições anaeróbias, os QACs apresentam muito baixa ou nenhuma biodegradabilidade (M T Garcia, et al., 1999; M T Garcia, et al., 2000).

### D.2.3. Surfactantes não-iónicos

#### **APE**

A biodegradação de etoxilatos de alquilfenol (APEs) em estações de tratamento de águas residuais inicia-se pela diminuição das cadeias etoxilatos, formando APEs de cadeia curta, com não mais de uma ou duas unidades etoxilatos. A remoção completa de grupos etoxilatos com formação de alquilfenóis (APs) já se verificou, no entanto, apenas em ambientes anaeróbicos (Giger, et al., 1984). Após a formação de APEs de cadeia curta, a transformação continua por oxidação da cadeia restante, originando maioritariamente ácido etoxifenoxiacético (APE(2)C) e ácido fenoxiacético (APE(1)C) (Talmage, 1994). Estudos anteriores indicam que metabolitos APE são mais facilmente degradados em condições aeróbicas (Brunner, et al., 1988).

Pensa-se que em estações de tratamento de águas residuais a degradação seja apenas parcial: 93-99% nos EUA (Naylor, 1995); 66-99% no Japão (Nasu, et al., 2001); 74-98% em Itália (Crescenzi, et al., 1995; Di Corcia & Samperi, 1994); 74-89% na Suíça (Ahel, et al., 1994).

## **AE**

Os álcoois gordos etoxilados (AEs) são facilmente biodegradados tanto em condições aeróbicas como anaeróbicas. Szymanski et al. (2000) verificaram uma taxa de biodegradação de 96% em sistema de fluxo contínuo de lamas ativadas. Por outro lado, Reznickova et al. (2002) mostraram que num sistema estático em ambiente aquático, a degradação primária foi atingida em 10 dias com uma taxa entre os 75 e os 98%. Knaebel et al. (1990) registaram a biodegradação de AEs em diversos tipos de solo, concluindo que estes compostos não se acumulam em solos consertados com lamas de tratamento.

Pensa-se que o mecanismo de biodegradação aeróbio de AEs se inicie com a quebra da molécula central, seguida por  $\omega$ - e  $\beta$ -oxidações do carbono terminal da cadeia alquilo e da diminuição hidrolítica do carbono terminal da cadeia polietoxílica (Reznickova, et al., 2002). Por seu turno, a degradação anaeróbica inicia-se com a quebra da unidade etoxi terminal, libertando acetaldeído e reduzindo o tamanho da cadeia etoxi até se atingir o grupo lipofílico (Huber, et al., 2000).

### *D.3. Efeito biológico dos tensoativos e dos seus produtos de degradação*

Os tensoativos que entram no ambiente através da descarga de efluentes em águas superficiais e da aplicação de lamas de tratamentos a solos agrícolas, têm o potencial de alterar o ecossistema devido à sua toxicidade para a biota.

#### **D.3.1. Toxicidade Aquática**

Lewis (1991) sintetizou as toxicidades crónicas e sub-letais dos tensoativos para os animais aquáticos e concluiu que a toxicidade crónica de tensoativos aniónicos e não-iónicos ocorre a concentrações geralmente superiores a 0.1mg/l.

Singh et al., (2002) testaram a toxicidade de 7 tensoativos em 6 macróbios de água fresca e percebeu que os tensoativos catiónicos são mais tóxicos que os aniónicos, e que estes últimos são mais tóxicos que os não-iónicos.

Utsunomiya et al., (1997) estudaram um LAS e três cloretos de alquilamónio em algas unicelulares. A concentração média efetiva após 24h (EC-24h) foi de 3.5mg/l para o LAS e 0,79mg/L, 18mg/l, 1,3mg/l para os respetivos sais de amónio quaternário.

A dureza da água (>2000mg/l de CaCO<sub>3</sub>) poderá ser um fator de stress, uma vez que a LC50-48h é muito menor do que para águas menos duras, para a mesma concentração de LAS.

O valor de LAS mais elevado de concentração de efeito não observado (NOEC) é de 0,2mg/l, no entanto, Hofer et al., (1995) verificaram que a essas concentrações as brânquias das trutas hipertrofiavam e a sua capacidade natatória reduzia após 54 dias de exposição.

Garcia et al. (2001), estudaram a toxicidade aguda de dois compostos de amónio quaternário em dáfnias e fotobactérias: haletos de alquil trimetil amónio e alquil benzil dimetil amónio. A EC50-24h para dáfnias variou entre os 0.13 e os 0.38mg/L enquanto para as fotobactérias variou entre os 0.15 e os 0.63mg/l.

Mann e Bidwell (2001) estudaram a toxicidade aguda de NPEs e AEs em girinos de sapos Australianos e Exóticos. Todas as espécies exibiram narcose não específica após exposição a estes tensioativos. Os valores de EC50-48h para os NPE variaram entre 1.1mg/l (narcose leve) e 12.1mg/l (narcose completa). Por outro lado, os valores de EC50-48h para os AE variaram entre 5.3mg/l (narcose leve) e os 25.4mg/L (narcose completa).

#### D.3.2. Toxicidade Terrestre

Nos últimos anos a utilização de lamas de tratamento de águas residuais como fertilizantes agrícolas tem vindo a aumentar. Estudos realizados verificaram concentrações elevadas de tensioativos bem como outros contaminantes. Desta forma, o ambiente terrestre tornou-se num gigante depósito destes compostos. Assim, de modo a usar as lamas de tratamento - como suplemento para solos - de forma sustentável, é necessário proceder a testes de toxicidade dos tensioativos aos microrganismos terrestres e em especial às plantas.

Os dados de toxicidade terrestre são poucos e relacionam-se essencialmente com a toxicidade de LAS em plantas e em fauna do solo (Klopper-Sams, et al., 1996).

A Unilever (1987) estudou os efeitos dos LAS em sorgo, girassol e feijão mungo. O valor mais elevado de concentração de efeito não observado (NOEC) foi de 100mg/Kg para as três espécies.

Gunther e Pestemer (1990) realizaram uma série de testes sobre o efeito de LAS em aveia, nabo e mostarda em solo arenoso sob diferentes concentrações e mediram o peso dos sarmentos depois de 14 dias de exposição. O peso mais baixo para EC5 foi verificado para a aveia (50mg/Kg solo), no entanto o seu valor de EC50 foi semelhante ao do nabo e da mostarda.

Litz et al., (1983) observaram danos fisiológicos profundos a curto prazo em azevém, mas nenhuma redução no rendimento à colheita.

Posto isto, e de acordo com os dados de toxicidade terrestre disponíveis, pode considerar-se que os LAS não são altamente tóxicos para organismos terrestres.

#### D.3.4. Disrupção Endócrina

Alguns químicos no ambiente têm a capacidade de perturbar o normal funcionamento do sistema endócrino tanto nos animais como no ser humano; estes químicos são conhecidos como disruptores endócrinos (EDs) (G. G. Ying & Kookana, 2002).

As propriedades estrogénicas do alquilfenóis conhece-se desde 1938 (Dodds, et al., 1938). Os NP e OP têm capacidade de induzir a produção de vitelogenina em peixes-macho – proteína apenas encontrada em fêmeas sexualmente maduras. E sob a influência de estrogénio (Pedersen, et al., 1999).

Jobling et al., (1998) mostraram a presença de disrupção sexual em peixes selvagens em rios do Reino Unido. Estes dados sugerem a existência de alguns rios e estuários contaminados no Reino Unido e sugerem também que os níveis de alquilfenóis são elevados o suficiente para alterar a capacidade reprodutiva de peixes saudáveis.

#### E. Métodos de deteção de resíduos de agentes de limpeza

Processos de validação de limpeza devem ser efetuados de modo a garantir que os resíduos de agentes de limpeza se encontram dentro de limites aceitáveis.

A maioria dos produtos de limpeza são constituídos por um conjunto de tensoativos que passam a estar num estado de elevada diluição depois do processo de enxaguamento estar completo. Assim, torna-se difícil a aplicação de métodos analíticos sensíveis o suficiente para detetar tais concentrações de tensoativos. Adicionalmente, é importante que os métodos analíticos sejam simples e de resultados rápidos.

Ao longo dos anos, diversos estudos foram realizados utilizando diferentes métodos analíticos: cromatografia de fase reversa com deteção UV, cromatografia iónica com deteção de condutividade, análise de carbono orgânico total, pH e deteção visual.

Do ponto de vista químico, a maioria dos detergentes contém elevadas quantidades de tensoativos, apresentando características ácidas/básicas fortes ou elevada força iónica. Desta forma, os métodos analíticos mais simples e que apresentam resultados mais rápidos e aceitáveis são a análise do pH e da condutibilidade das águas residuais.

Em 2011, Milenovic et al., realizaram um estudo comparativo da eficiência da medição do pH, da condutibilidade e da deteção visual de espuma para deteção de resíduos de detergentes. Desta análise comparativa, resultou que a análise do pH é a técnica menos sensível, enquanto a deteção visual de espuma é mais sensível, sendo, no entanto, apenas um método semi-quantitativo. Os métodos de condutibilidade, por sua vez, são também de análise simples de igual sensibilidade à produção de espuma e têm como vantagem adicional o facto de serem métodos quantitativos.

Para a escolha de um método de análise de resíduos de agentes de limpeza, é importante ter em conta as propriedades do mesmo. A medição do pH é um bom método para a deteção de resíduos com características altamente alcalinas ou ácidas. Por outro lado, resíduos de agentes de limpeza iónicos podem ser detetados com recurso a análises de condutibilidade. De modo geral, como os detergentes de limpeza são constituídos por uma série de tensoativos com diferentes propriedades, é aconselhável a utilização de dois métodos diferentes.

## IV. Avaliação crítica do Estágio

O Estágio realizado na Quinta and Vineyard Bottlers, S.A, empresa pertencente à imensa família da The Fladgate Partnership, teve grande importância a nível profissional. Mais do que uma aprendizagem, foi o primeiro contato com a vida profissional, o primeiro passo para o temido e cada vez mais próximo mundo do trabalho. Foi uma experiência aliciante e desafiadora. A maior das experiências.

O meu Estágio foi isso. Foi isso e foi mais. Foi acima de tudo, um bonito partilhar de vivências, amizades e histórias. Muitas e muito felizes, que me acompanharão e passarão a fazer parte da minha vida.

Não podia ter sido melhor recebida, não podia ter pedido melhores Colegas e Professores. Fizeram da sua, a minha Casa. Fui rapidamente integrada e pude desenvolver as minhas capacidades interpessoais, relacionando-me com os colaboradores da Empresa e, especialmente, com todo o grupo da Área Técnica, melhorando e aumentando as minhas habilidades e competências cognitivas e sociais.

Permitiram-me o desenvolvimento deste projeto, deram-me liberdade de decisão e aguçaram-me a vontade de descobrir. Tanto e tudo. Deram-me a responsabilidade do meu destino e deixaram que errasse, para perceber que há caminhos para além do óbvio.

Paralelamente, no decorrer dos meses, tive também a oportunidade de aprender um pouco sobre todos os processos de produção e envelhecimento que levam à venda de cada garrafa. Vi e vivi, a realidade de vários departamentos e subdepartamentos, desde a análise de vinhos em envelhecimento e de vinhos prontos, aos tratamentos e refrigeração, passando pelos imponentes armazéns repletos de cascos, balseiros e tonéis e, por fim, as linhas de engarrafamento, que tanto engarrafam vinho próprio como prestam serviços para outros.

Aproveitei ainda para desenvolver e ampliar os meus conhecimentos sobre toda a Região Demarcada do Douro e, sobretudo, sobre o apaixonante mundo do Vinho do Porto. Este estágio permitiu alargar, de forma significativa, o meu leque de saberes.

Porque enquanto se cresce nada mais se pede senão que nos ensinem, agradeço por tudo o que me ensinaram. E que assim seja, sempre, num ciclo de conhecimento em que se chega a confundir quem ensina e quem aprende.

## V. Referências Bibliográficas

- Ahel, M., & Giger, W. (1993a). Aquous solubility of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates. *Chemosphere*, 26, 1461.
- Ahel, M., & Giger, W. (1993b). Partitioning of alkylphenols and alkylphenols polyethoxylates between water and organic solvents. *Chemosphere*, 26, 1461.
- Ahel, M., Giger, W., & Koch, M. (1994). Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment: Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Research*, 28, 1131.
- Almeida, A. A., Cardoso, M. I., Ferreira, M., & Lima, J. L. (1994). Determination of copper in Port Wine and Madeira by electrothermal atomization AAS. *Atomic Spectroscopy*, 2, 5.
- Arukwe, A., Goksoyr, A., & Thibaut, R. C. J. (2000). Metabolism and organ distribution of nonylphenol in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Marine Environmental Research*, 50, 141.
- Bakker, J., & Timberlake, C. F. (1985). The distribution and content of anthocyanins in grape skin extracts of port wine cultivars as determined by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(12), 10.
- Bakker, J., & Timberlake, C. F. (1986). The mechanism of color changes in aging port wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 5.
- Bakker, J., & Timberlake, C. F. (1997). Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 8.
- Baleux, B. A., & Caumette, P. (1997). biodegradation of some cationic surfactants. *Water Research*, 11, 833.
- Barbosa, A., Silva Ferreira, A. C., Melo, H., de Pinho, G., Graça, A. R., Soares Franco, J. M., & Hogg, T. (2003). Determination of free and bound terpenes and norisoprenoids during alcoholic fermentation of Port Wine. In E. Tec&Doc (Ed.), *Oenologie 2003 - VIIème Symposium International d'Oenologie*, (pp. 589-593). Bordeaux - França.
- Berna, J. L., Ferrer, J., Moreno, A., Prats, D., & Bevia, F. R. (1989). The fate of LAS in the environment. *Tenside surfactants Detergets*, 1126, 101.

- Birks, A. G., & Sarmiento, M. M. (1991). Maceration for Premium Port Wine production *Australia and New Zealand Wine Industry Journal*, 6, 3.
- Blanchard, L., Tominaga, T., & Dubourdieu, D. (2001). Formation of furfurylthiol exhibiting a strong coffee aroma during oak barrel fermentation from furfural released by toasted staves. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, 3.
- Brunner, P. H., Capri, A., Marcomini, A., & Giger, W. (1988). Occurrence and behaviour of linear alkyl-benzene sulphonates, nonylphenol, nonylphenol mono- and diethoxylates in sewage and sewage sludge treatment. *Water Research*, 22, 1465.
- Câmara, J. S., Marques, J. C., Alves, M. A., & Silva Ferreira, A. C. (2004). 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone levels in fortified Madeira wines: relationship to sugar content. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52, 5.
- Campos, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2008). The chemical characterization of the aroma of dessert and sparkling white wines (Pedro Ximénez, Fino, Sauternes, and Cava) by gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 8.
- Cardeira, R. (2009). *Fatores Críticos de Sucesso no Mercado do Vinho em Portugal e a Sustentabilidade do Sector Vitivinícola*. Instituto Técnico de Lisboa, Lisboa - Portugal.
- Cardoso, A. (2003). Portugal e a Inglaterra nos Tempos Modernos. *Revista da Faculdade de Letras*, 4, 20.
- Carrascon, V., Fernandez-Zurbano, P., Bueno, M., & Ferreira, V. (2015). Oxygen consumption by red wines. Part II: differential effects on color and chemical composition caused by oxygen taken in different sulfur dioxide-related oxidation contexts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 63(51), 10.
- Chris Somers, T., & Evans, M. E. (1977). Spectral Evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO<sub>2</sub>, "chemical age". *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 28(3), 9.
- Couto, L. M., & Caldeira, M. A. (2002). Port-wine spectral monitoring. *Spectroscopy Europe*, 14(5), 5.
- Couto, L. M., & Caldeira, M. A. (2003). Port wine spectrophotometry. *Optics and Laser*, 25, 6.
- Crescenzi, C., Di Corcia, A., & Samperi, R. (1995). Determination of non-ionic polyethoxylate surfactants in environmental waters by liquid

- chromatography/electrospray mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 67, 1797.
- Cuinier, C. (1983). La stabilization biologique des vins. *Vignes et vins*, 317, 4.
- Curvelo-Garcia, A. (1998). Controlo de Qualidade dos Vinhos. In I. d. V. e. d. Vinho (Ed.), *Química Enológica - Métodos Analíticos* (pp. 420). Lisboa - Portugal.
- Cutzach, I., Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (1999). Study of the formation mechanisms of some volatile compounds during the aging of sweet fortified wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 10.
- Day, M., Schmidt, P., & Wilkes, E. (2015). Use and impact of oxygen during winemaking. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21, 10.
- Di Corcia, A., & Samperi, R. (1994). Monitoring aromatic surfactants and their biodegradation intermediates in raw and treated sewages by solid-phase extraction and liquid chromatography. *Environment Science & Technology*, 28, 850.
- Dodds, E. C., Goldberg, L., Lawson, W., & Robinson, R. (1938). Oestrogenic activity of certain synthetic compounds. *Nature*, 1, 247.
- Escudero, A., Cacho, J., & Ferreira, V. (2011). Isolation and identification of odorants generated in wine during its oxidation: a gas chromatography-olfactometric study. *European Food Research and Technology*, 2011, 6.
- Ferreira, A. C. S., Avila, I. M. L. B., & de Pinho, P. G. (2005). Sensorial impact of sotolon as the "perceived age" of aged port wine In C. Frey & R. Rouseff (Eds.), *Natural Flavours and Fragrances*. New York American Chemical Society.
- Ferreira, R., Pereira, G. M., Monteiro, S., Loureiro, V., & Teixeira, A. R. (2002). The wine proteins *Food Science and Technology*, 12, 10.
- Ferreira-Leach, A. M. R., & Hill, E. M. (2001). Bioconcentration and distribution of 4-tert-octylphenol residues in tissue of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Marine Environmental Research*, 51(75), 89.
- Flanzy, C. (1998). *Oenologie*. Paris - France.
- García, M. A. P., Vega, M. R., Fernandez, C. d. I. T., de la Fuente, J. A. B., & Cárcel, L. M. C. (2008). Full-range, true on-line turbidimeter based upon optical fibers for application in the wine industry. In *IEEE - International Instrumentation and Measurement Technology Conference*. Victoria, Vancouver Island, Canada.

- Garcia, M. T., Campos, E., Sanchez-Leal, J., & Ribosa, I. (1999). Effect of the alkyl chain length on the anaerobic biodegradation and toxicity of quaternary ammonium based surfactants. *Chemosphere*, 38, 3473.
- Garcia, M. T., Campos, E., Sanchez-Leal, J., & Ribosa, I. (2000). Anaerobic degradation and toxicity of commercial cationic surfactants in anaerobic screening tests. *Chemosphere*, 41, 705.
- Garcia, M. T., Ribosa, I., Guindulain, T., Sanchez-Leal, J., & Vives-Rego, J. (2001). Fate and effect of monoalkyl quaternary ammonium surfactants in the aquatic environment. *Environmental Pollution*, 111, 169.
- Giger, W., Brunner, P. H., & Schaffner, C. (1984). 4-nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from non-ionic surfactants. *Science*, 225, 623.
- Gonzalo-Mazo, E., Honing, M., Barcelo, D., & Gomez-Parra, A. (1997). Monitoring long-chain intermediate products from the degradation of linear alkylbenzene sulfonates in the marine environment by solid-phase extraction followed by liquid chromatography/ion spray mass spectrometry. *Environment Science & Technology*, 31, 504.
- Gunther, P., & Pestemer, W. (1990). Phytotoxicity of surfactants to higher plants. In J. E. Hall, D. E. sauerbeck & P. L. Hermit (Eds.), *effects of organic contaminants in sewage sludge on soil fertility, plants and animals*.
- Hodge, J. E. (1953). Dehydrated Foods, Chemistry of browning reactions in model systems. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1, 15.
- Hofer, R., Jeney, Z., & bucher, F. (1995). Chronic effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and ammonia on rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry at water criteria limits. *Water Research*, 29(2725), 9.
- Hogg, T. (2013). 21 Port. In F. Mencarelli & P. Tonutti (Eds.), *Sweet, Reinforced and Fortified Wines*, vol. 1): john wiley & Sons, Ltd.
- Holt, M. S., Fox, K. K., Burford, M., Daniel, M., & Buckland, H. (1999). UK monitoring study on the removal of linear alkylbenzene sulphonate in trickling filter type sewage treatment plants. *Science of the total environment*, 226, 93.
- Holt, M. S., Mathijis, E., & Waters, J. (1989). The concentrations and fate of linear alkylbenzene sulphonate in sludge amended soils. *Water Research*, 23, 749.
- Hsu, J. C., & Heatherbell, D. A. (1987). Isolation and characterization of soluble proteins in grapes, grape juice and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38, 4.

- Huber, M., Meer, U., & Rys, P. (2000). Biodegradation mechanisms of linear alcohol ethoxylates under anaerobic conditions. *Environment Science & Technology*, 34, 1737.
- Humpf, H. U., Winteralter, P., & Schreier, P. (1991). 3,4-Dihydro-.beta.-ionone.beta.-Dglucopyranoside: natural precursor of 2,2,6,8-tetramethyl-7.11-dioxatricyclo[6.2.1.01,6]undec-4-ene (Riesling acetal) and 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaphtalene in red currant (*Ribes rubrum* L.) leaves. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39, 3.
- ICI, B. I. (1987). Effects on the growth of Sorghum bicolor, Helianthus annuus and Phaselous aureus. In). UK: Unilever Research Port Sunlight laboratory.
- Infovini. (2009). Douro In, vol. 2018).
- ISO 7027. (1990). Water Quality. In International Standard (Ed.)).
- IVDP. (2018a). Categorias Especiais. In, vol. 2018).  
<https://www.ivdp.pt/pagina.asp?codPag=65>.
- IVDP. (2018b). Circular N° 05/2005. In, vol. 2018).  
<https://www.ivdp.pt/pagina.asp?content=circular&cod=48>.
- IVDP. (2018c). Estatísticas. In, vol. 2018).  
<https://www.ivdp.pt/pt/docs/StatVendas/Porto/Quadro%202018.pdf>.
- IVDP. (2018d). Introdução. In, vol. 2018).  
<https://www.ivdp.pt/pagina.asp?codPag=64&codSeccao=2&idioma=0>.
- IVDP. (2018e). Limite da Região Demarcada do Douro. In, vol. 2018).  
<https://www.ivdp.pt/pagina.asp?codPag=29>.
- IVDP. (2018f). Vinho do Porto. In, vol. 2018).  
<https://www.ivdp.pt/pagina.asp?codPag=48&codSeccao=6&codLei=192>.
- Jackson, R. (2008). *Wine Science Principles and Applications 3rd Edition*: Elsevier Inc.
- Jarauta, I., Cacho, J., & Ferreira, V. (2005). concurrent phenomena contributing to the formation of the aroma of wine during aging in oak wood: an analytical study. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 11.
- Jensen, J. (1999). Fate and effects of linear alkylbenzene slphonates (LAS) in the terrestrial environment. *Science of the total environment*, 226, 93.
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C. R., Brighty, J., & Sumpter, J. P. (1998). Widespread sexual disruption in wild fish *Environment Science & Technology*, 32, 2498.

- Kloepper-Sams, P., Torfs, F., Feijtel, T., & Gooch, J. (1996). Effects assessment for surfactants in sludge-amended soils: a literature review and perspectives for terrestrial risk assessment. *Science of the total environment*, 185, 171.
- Knaebel, D. B., Federle, T. W., & Vestal, J. R. (1990). mineralisation of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) and linear alcohol ethoxylate (LAE) in 11 contrasting soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9, 981.
- Kunukcu, Y. K. (2005). Kinetics of wet air oxidation (WAO) of alcaloide factory wastewater *Journal of Environmental Science and Health: Part A-Toxic/hazardous substances environmental engineering*, 40 (4), 10.
- Lambropoulos, I., & Roussis, I. G. (2007). Inhibition of the decrease of volatile esters and terpenes during storage of a white wine and a model wine medium by caffeic acid and gallic acid. *Food Research International*, 40, 5.
- Lewis, M. A. (1991). chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assessment *Water Research*, 25, 101.
- Litz, N., Doering, H. W., Thiele, M., & Blume, H. P. (1983). The behaviour of linear alkylbenzenesulfonate in different soils: a comparison between field and laboratory studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 14, 103.
- Loureiro, N. (2011). *O Posicionamento da marca Vinho do Porto no Panorama Nacional* Instituto Politécnico de Bragança, Bragança - Portugal.
- Loureiro, N., & Fernandes, P. (2011). Port Wine Characterisation and Positioning in Portugal. In *XV Congreso Internacional de Investigación en Ciencias Administrativas A. C. (ACACIA)*. Veracruz, Mexico.
- Lubbers, S., Leger, B., Charpentier, C., & Feuillat, M. (1993). Effet colloïde protecteur d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartarique d'une solution hydroalcoolique model. *Journal International des sciences de la vigne et du vin*, 27, 10.
- Mann, R. M., & Bidwell, J. R. (2001). The acute toxicity of agricultural surfactants to the tadpoles of four Australian and two exotic frogs. *Environmental Pollution*, 114, 195.
- Marais, J. (1978). The effect of pH on esters and quality of Colombar wine during maturation. *Vitis*, 19, 4.

- Marchand, S., de Revel, G., & Bertrand, A. (2000). Approaches to wine aroma: release of aroma compounds from reactions between cysteine and carbonyl compounds in wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 6.
- Martins, C. (1998). Os Ciclos do Vinho do Porto: Ensaio de Periodização. *Análise Social*, XXIV, 38.
- Mateus, N., Silva, A. M., Vercauteren, J., & de Freitas, V. A. P. (2001). Occurrence of anthocyanin-derived pigments in red wines. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49(10), 8.
- Mateus, N., Silva, A. M. S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C., & de Freitas, V. A. P. (2002). Identification of anthocyanin-flavonol pigments in red wines by NMR and mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50(7), 7.
- Mesquita, R., Piçarra-Pereira, M. A., Monteiro, S., Loureiro, V. B., Teixeira, A. R., & Ferreira, R. B. (2001). Effect of wine composition on protein stability. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52, 7.
- Milenovic, D. M., Pesic, D. S., & Mitic, S. S. (2011). Non-specific methods for detecting residues of cleaning agents during cleaning validation *CI&CEQ*, 17(2), 6.
- Monforte, A. R. (2012). *Changes in the volatile fraction composition of port wines during aging: a mechanistic approach*. Universidade Católica Portuguesa, Porto - Portugal.
- Nasu, M., Goto, M., Kato, H., Oshima, Y., & Tanaka, H. (2001). Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. *Water Science & Technology*, 43(2), 101.
- Naylor, C. G. (1995). Environmental fate and safety of nonylphenol ethoxylates *American Association of Textile Chemists and Colorists*, 27, 29.
- Nikolantonaki, M., Jourdes, M., Shinoda, K., Teissedre, P. L., Quideau, S., & Darriet, P. (2012). Identification of adducts between an odoriferous volatile thiol and oxidized grape phenolic compounds: kinetic study of adduct formation under chemical and enzymatic oxidation conditions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 60, 10.
- Nishiyama, N., Toshima, Y., & Ikeda, Y. (1995). Biodegradation of alkyltrimethylammonium salts in activated sludges. *Chemosphere*, 27, 29.
- OIV. (1994). *Compendium of international Methods for Spirits, Alcohols and Aromatic Fractions in Beverages. Turbidity - Nephelometric Analysis Method*. France.

- OIV. (2000). Wine Turbidity. In, vol. 2018). <http://www.oiv.int/public/medias/2476/oiv-ma-as2-08.pdf>: OIV.
- Oldenburg, H. (1999a). From Grape to Port. In *Port*, vol. 1 (pp. 381). Denmark: Smag & behag.
- Oldenburg, H. (1999b). Port Types. In *Port*, (pp. 381). Denmark: Smag & Behag.
- Oliveira, C. M., Barros, A. S., Ferreira, A. C. S., & Silva, A. M. (2015). Influence of the temperature and oxygen exposure in red port wine: a kinetic approach. *Food Research International*, 75, 10.
- Oliveira, L. M. C., & Clemente, A. C. P. (2003). Port Wine spectronephelometry. *Optics and Laser Technology*, 35, 6.
- Pedersen, S. N., Christiansen, L. B., Pedersen, K. L., Korsgaard, B., & Bjerregaard, P. (1999). In vivo estrogenic activity of branched and linear alkylphenols in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Science of the total environment*, 233, 89.
- Perales, J. A., Manzano, M. A., Sales, D., & Quiroga, J. A. (1999). Biodegradation kinetics of LAS in river water. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 43, 155.
- Pereira, G. M. (2004). Porto: um vinho com história In, vol. 2018). IVDP.
- Pissarra, J. (2005). *Influência das aguardentes víquicas na qualidade do Vinho do Porto. Interações dos aldeídos com polifenóis dos vinhos*. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto - Portugal.
- Reader, H. P., & Dominguez, M. (2003). Fortified Wines: Sherry, Port and Madeira In A. G. H. Lea & J. R. Piggot (Eds.), *Fermented Beverages Production* 2nd Edition ed.): Springer.
- Reznickova, J., Hoffmann, J., & Komarek, K. (2002). Biodegradation of technical mixtures of oxyethylenated aliphatic alcohols in aqueous environment. *Chemosphere*, 48, 83.
- Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, P., & Ribéreau-Gayon, P. (1977). *Science et techniques du vin, tome 4. Clarification et stabilization et installations*. Dunot, Paris.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, I., Maujaan, A., & Dubordieu, D. (2000). Stabilization Treatments. In *Handbook of Enology - The Chemistry of Wine* vol. 2). West Sussex - England: John Wiley & Sons, Ltd.

- Rizzi, G. P. (2006). Formation of Strecker aldehydes from polyphenol-derived quinones and  $\alpha$ -aminoacids in a nonenzymatic model system. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 5.
- Rogerson, F. S. S., & de Freitas, V. A. P. (2002). Fortification Spirit, a Contributor to the Aroma Complexity of Port. *Journal of Food Science*, 67(4), 6.
- Romero, C., & Bakker, J. (2000). Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 11.
- Sánchez-Iglesias, M., González-Sanjosé, M. L., Pérez-Margariño, S., Ortigas-Heras, M., & González-Huerta, C. (2009). Effect of micro-oxygenation and wood type on the phenolic composition and color of an aged red wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57(24), 11.
- Sarmiento, M. R., Oliveira, J. C., Slatner, M., & Boulton, R. B. (2000). Influence of intrinsic factors on conventional wine protein stability tests *Food Control*, 11, 10.
- Saucier, C. (1997). *Les tanins du vin: Étude de leur stabilité colloïdale* Université de Bordeaux II, Bordeaux - França.
- Silva, E. (2011). *Identificação de turvação/precipitado num vinho generoso Moscatel de Setúbal*. Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa, Lisboa - Portugal.
- Silva Ferreira, A. C., Barbe, J. C., & Bertrand, A. (2002). Heterocyclic acetals from glycerol and acetaldehyde in port wines: evolution with aging. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 5.
- Silva Ferreira, A. C., Barbe, J. C., & Bertrand, A. (2003). 3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone: A Key odorant of the typical aroma of oxidative aged port wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 8.
- Simões, O. (2003). A Regulação do Mercado do Vinho em Portugal. In, vol. 2018).
- Singh, R. P., Gupta, N., Singh, S., Singh, A., Suman, R., & Annie, K. (2002). toxicity of ionic and non-ionic surfactants to six microbes found in Agra, India. *bulletin of environmental contamination and toxicology*, 69, 265.
- Singleton Vernon, L., Berg, H. W., & Guymon, J. F. (1964). Anthocyanin color level in Port-type wines as affected by the use of wine spirits containing aldehydes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 15(2), 7.

- Singleton Vernon, L., & Cilliers Johannes, J. L. (1995). Phenolic Browning: A perspective from Grape and Wine Research. In *Enzymatic Browning and its prevention*, (pp. 25). New York - USA: American Chemical Society.
- Sioumis, N., Kallithraka, S., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2006). Kinetics of browning onset in white wines: influence of principal redox-active polyphenols and impact on the reducing capacity. *Food Chemistry*, 94(1), 7.
- Sousa, F. (2002). O Alto Douro. Da Demarcação Pombalina à Classificação de Património Mundial *População e Sociedade*, 13, 11.
- Swisher, R. D. (1987). *Surfactant biodegradation* (Vol. 18). New York.
- Szymanski, A., Wrywas, B., Swit, Z., Jaroszynski, T., & Lukaszewski, Z. (2000). Biodegradation of fatty alcohols ethoxylates in the continuous flow activated sludge test. *Water Research*, 34, 4101.
- Talmage, S. S. (1994). Environmental and human safety of major surfactants: alcohol ethoxylates and alkylphenol ethoxylates. . In). boca Raton, Florida: Soap and Detergent Association.
- Taylor's. (2017a). Envelhecimento e Categorias. In, vol. 2018). <https://www.taylor.pt/pt/o-que-e-o-vinho-do-porto/envelhecimento-e-categorias>.
- Taylor's. (2017b). Sobre a Taylor's. In, vol. 2018). <https://www.taylor.pt/pt/sobre/historia>.
- Taylor's. (2017c). Solo e Clima In, vol. 2018). <https://www.taylor.pt/pt/o-que-e-o-vinho-do-porto/a-regiao-do-douro/solo-e-clima>.
- Thomas, O. R. T., & White, G. F. (1989). Metabolic pathway for the biodegradation of sodium dodecyl sulfate by *Pseudomonas* sp C12B. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 11, 318.
- Timberlake, C. F., & Bridle, P. (1976). Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 27(3), 8.
- United States Environmental Protection Agency. (1999). Guidance Manual for Compliance with the interim Enhanced Surface Water Treatment Rule: Turbidity Provisions. In O. o. Water (Ed.).
- Utsonomiya, A., Watanuki, T., Matsushita, K., nishina, M., & Tomita, I. (1997). Assessment of the toxicity of linear alkylbenzene sulfonate and quaternary

- alkylammonium chloride by measuring C-glycerol in *Dunaliella* sp. *Chemosphere*, 35, 2479.
- van Ginkel, C. G. (1996). Complete Degradation of xenobiotic surfactants by consortia of aerob microorganisms *Biodegradation*, 7, 14.
- Vasconcelos, M. T., & Azenha, M. (2001). In vitro assessment of bioavailability of Pb and Cu in different Portuguese wines. In F. V. d. l'OIV (Ed.), vol. 1135).
- Wildenradt, H. L., & Singleton Vernon, L. (1974). The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wine aging. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25(2), 7.
- Yadav, J. S., Lawrence, D. L., Nuck, B. A., Federle, T. W., & Reddy, C. A. (2001). Biotransformation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by *Phanerochaete chrysosporium*: oxidation of alkyl side-chain. *Biodegradation*, 12, 443.
- Ying, G.-G. (2005). Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. *Environment International*, 32, 15.
- Ying, G. G., & Kookana, R. S. (2002). endocrine disruption: an Australian perspective. *Australian Water Association*, 29(6), 53.

## VI. Anexos

<b>QVB</b>	INSTRUÇÕES DE TRABALHO	Codificação IT.AT.39.00
Quinta and Vineyard Bottlers, Vinhos SA	TIRAGEM DE AMOSTRAS	Pag. 1 de 2

## 1. Objectivo

Tiragem de amostras para análise, de modo a verificar e controlar cada movimento de vinho no armazém.

## 2. Procedimento

Cada movimento, ou operação efetuada sobre o vinho, gera automaticamente uma amostra, para análise no Laboratório.

Entende-se por movimentos com amostra obrigatória os seguintes:

- ❖ Formação de lote
- ❖ Transferência de vasilhas
  - Tiragem em limpo
  - Transferência de vinho para outra vasilha do mesmo Centro
  - Atesto à vasilha
  - Transferência de vinhos Gaia/Gaia, Douro/Gaia, Gaia/Douro e Douro/Douro
  - Vinhos em Concerto (deve ser retirada uma amostra por cima da vasilha e outra pela torneira de tiragem em limpo);
  - Refrigerações;
  - Filtrações;
  - Pasteurizações
- ❖ Adições (devem ser retiradas no dia seguinte ao tratamento)
  - Adições de AD
  - Adições de Produtos Enológicos
  - Adições de água em Brandy
- ❖ Amostras de Lavradores ou Adegeiros de camião para as nossas instalações (neste caso devem ser lacradas)

No caso dos despejos, ajuntos e borras, a decisão de tirar amostra é da Sala de Provas.

**Nota:** os encarregados de armazém são responsáveis pela tiragem e envio das amostras para o Laboratório juntamente com o impresso de trabalho devidamente preenchido.

Elaborados por:	Aprovado por:	Data: _ / _ / _
-----------------	---------------	-----------------

<b>QVB</b>	INSTRUÇÕES DE TRABALHO	Codificação IT.AT.39.00
Quinta and Vineyard Bottlers, Vinhos SA	TIRAGEM DE AMOSTRAS	Pag. 2 de 2

### 2.1. De cascos

1. Verificar a etiqueta que deve ter: marca do vinho, nº da vasilha e quantidade em litros;
2. Verificar se a pipeta está bem lavada;
3. Ao tirar o batoque, verificar que o casco esteja limpo nessa zona para evitar que a sujidade caia para a garrafa;
4. Utilizar o aparelho de recolha de amostras desenhado especialmente para recolha de amostras em cascos;
5. Passar a garrafa por aproximadamente 100mL de vinho;
6. Usar a garrafa destinada à quantidade pretendida, rolar e etiquetar;
7. Recolocar bem o batoque (se necessário substituí-lo);
8. Lavar os materiais envolvidos;
9. Assinar a etiqueta da amostra.

### 2.2. De vasilhas grandes com *torneira de escala alta*

1. Verificar a etiqueta que deve ter: marca do vinho, nº da vasilha e quantidade em litros;
2. Retirar o vinho que esteja na escala;
3. Lavar o exterior da torneira de escala;
4. Deixar correr o equivalente a meia garrafa de vinho (375mL);
5. Passar a garrafa por 100mL de vinho;
6. Tirar a amostra (rolhar e etiquetar);
7. Lavar os materiais envolvidos;
8. Assinar a etiqueta da amostra

### 2.3. De vasilhas grandes com *torneira de escala baixa*

1. Verificar a etiqueta que deve ter: marca do vinho, nº da vasilha e quantidade em litros;
2. Retirar o vinho que esteja na escala;
3. Lavar o exterior da torneira de escala;
4. Deixar correr o equivalente a uma garrafa de vinho (750mL);
5. Passar a garrafa por aproximadamente 100mL de vinho;
6. Tirar a amostra, rolar e etiquetar;
7. Lavar os materiais envolvidos;
8. Assinar a etiqueta da amostra.

Elaborado por:	Aprovado por:	Data _ / _ / _
----------------	---------------	----------------

# Recolha de amostras

## Cascos



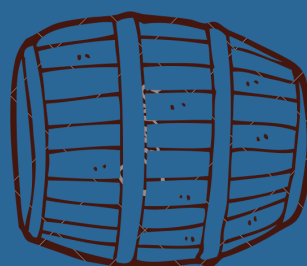
### O AMBIENTE

Verificar a etiqueta.  
Verificar se a pipeta está bem lavada.



### EU

Mãos e roupas limpas,  
sem contacto com o  
vinho



### CASCO

Ao tirar o batoque verificar  
que casco estela limpo. Se  
necessário substituir.



Utilizar o aparelho de  
recolha de amostras.



### O RECIPIENTE

Passar a garrafa por 100mL  
de vinho. Tirar a amostra,  
Rolhar e etiquetar.



### A ENTREGA

Assinar a etiqueta.  
Entregar a amostra na  
Sala de Amostras.

**QVB**

# Recolha de amostras

## Vasilhas Grandes



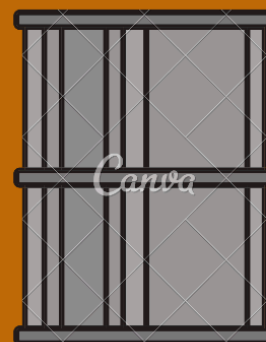
### O AMBIENTE

Verificar a etiqueta.



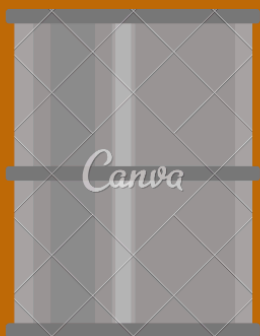
### EU

Mãos e roupas limpas,  
sem contacto com o  
vinho



### TORNEIRA DE ESCALA ALTA

Deixar correr o  
equivalente a meia  
garrafa de vinho



### TORNEIRA DE ESCALA BAIXA

Deixar correr o  
equivalente  
a uma garrafa de vinho



### O RECIPIENTE

Passar a garrafa por 100mL  
de vinho. Tirar a amostra,  
Rolhar e etiquetar.



### A ENTREGA

Assinar a etiqueta.  
Entregar a amostra na  
Sala de Amostras.

# QVB