



**Ana Rita de Sequeira Rosado**

Licenciatura em Engenharia Agronómica

**Evolução de Parâmetros Físicos, Químicos e Controlo  
Microbiológico em Vinhos Brancos e Tintos da Adega  
Cooperativa de Palmela**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Prof. Dr. Fernando José Cebola Lidon, Faculdade de Ciências e  
Tecnologia, UNL

Co-orientador: Engenheiro Luís Miguel Nunes de Oliveira da Silva, Adega  
Cooperativa de Palmela, CRL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Ana Lúcia Monteiro Durão Leitão, FCT/UNL

Vogais: Prof. Doutora Maria João Pires de Bastos Cabrita, UE

Prof. Doutor Fernando José Cebola Lidon, FCT/UNL

Eng. Luís Miguel Nunes de Oliveira da Silva, Adega  
Cooperativa de Palmela



**FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

Setembro, 2013



“Evolução de Parâmetros Físicos, Químicos e Controlo Microbiológico em Vinhos Brancos e Tintos da Adega Cooperativa de Palmela” © Ana Rita de Sequeira Rosado, FCT/UNL, UNL.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, devo agradecer à Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa e a todos os docentes do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar por todos os conhecimentos ministrados ao longo do curso das diferentes unidades curriculares.

Ao Professor Fernando Lidon, pela ajuda prestada em todas as fases deste projecto e pela paciência e conhecimentos que partilhou durante todo o mestrado.

Ao Engenheiro Luís Silva e a todos os órgãos directivos da Adega Cooperativa de Palmela, pela oportunidade que me deram em estagiar na empresa pelo apoio e ensinamentos.

Às técnicas Manuela Loureiro, Paula Carvalho e Ana Santos, por terem sido as minhas fadas madrinhas na adega, obrigada por me terem ajudado e apoiado no meu trabalho na adega e pelos ensinamentos e paciência que tiveram comigo durante quatro meses.

Aos restantes funcionários da adega, por me terem apoiado e acolhido tão bem, fizeram-se sentir parte da adega também.

Aos meus pais, pelo esforço que fizeram durante todos estes anos e, principalmente durante o tempo de estágio, para que eu pudesse estudar e entregar este trabalho. Obrigada também pela ajuda e força que me deram para concluir este trabalho e foi com muito gosto que partilhei com eles tudo o que me ensinaram.

E por último a todos os restantes membros da minha família e amigos e em especial ao meu tio Carlos que era um grande apreciador de vinhos brancos e que tenho a certeza que ficaria muito contente por ter feito o meu estágio numa adega.

Tenho pena de não ter tido a hipótese de te mostrar tudo o que eu aprendi...



## Resumo

A importância das bebidas alcoólicas na sociedade tem vindo a aumentar ao longo dos anos, nomeadamente o vinho que é hoje uma das bebidas mais consumidas no mundo. Este facto desencadeou um aumento na produção e exportação de vinho, o que implica a necessidade de um rigoroso controlo de qualidade e segurança alimentar. Neste sentido, as melhores ferramentas para assegurar a conformidade do produto são as análises físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais, que permitem a identificação rápida e atempada de defeitos ou problemas e auxiliam na melhoria e manutenção da qualidade dos vinhos.

O vinho é definido como uma bebida alcoólica produzida a partir da fermentação da uva com recurso à utilização de microrganismos. O processo de vinificação é, por isso, extremamente complexo e muito dependente de factores ambientais, da composição e qualidade da matéria-prima e da sua flora microbiana. Assim, as etapas que mais contribuem para as características do vinho (nomeadamente as sensoriais) são as fermentações, alcoólica e maloláctica, onde ocorre a interacção entre todos estes factores que, quando não são controlados, podem originar alterações indesejáveis e, por vezes, irreversíveis.

Neste estudo pretendeu-se analisar a evolução de alguns parâmetros analíticos de dois vinhos brancos e dois vinhos tintos (acidez volátil e total, pH, dióxido de enxofre livre e total, teor alcoólico e massa volúmica) desde a elaboração do lote até ao engarrafamento. Em geral, os resultados obtidos revelaram uma oscilação pouco significativa durante esse período de tempo. Em relação às análises microbiológicas realizadas ao vinho engarrafado, verificou-se que, a ocorrência da fermentação maloláctica, tem influência na quantidade de microrganismos que permanecem nos vinhos até ao fim do processo. Efectuou-se ainda um estudo de preferência, com recurso a provas sensoriais, tendo-se verificado que a maioria dos inquiridos aprovou nos diferentes parâmetros organolépticos testados (cor, aroma e sabor) os vinhos produzidos.

**Termos-Chave:** Fermentação alcoólica, Fermentação maloláctica, Microrganismos, Química do vinho, Vinho branco, Vinho tinto.

---



## Abstract

The importance of alcohol beverages in today's society is increasing through the years, in particular wine that is one of the most consumed beverages in the world. This fact triggered a rise of wine production and exportation and, concomitantly, the necessity of tight quality and safety insurance for consumption control. So, the best tools to assure the conformity of wine beverages are the chemical, physic, microbiology and sensorial analysis which also allow a quick assessment of defects and problems and, therefore, helps to improve and maintain the quality of the product.

The wine definition is simple: alcohol beverage that is obtained by fermented grapes using selected microorganisms. The winemaking process is extremely complex and the results of the finish product are very dependent of environmental factors, quality and grape composition and microbial flora. These factors have an important role in fermentations, alcoholic and malolactic, and can contribute to the wine characteristics resulting in good flavors and aromas but, if the control is insufficient, the changes can lead to undesirable and sometimes irreversible alterations.

The aim of this work was to compare two white wines and two red wines considering several chemical and physic characteristics (volatile and total acidity, pH, free and total nitrogen content, alcohol content and wine density) from the formulation of the lot until bottling. The results obtained showed that the variation is slim and not significant. In the microbiology analysis the occurrence of the malolactic fermentation influences the quantity of microorganisms that remain at wine at bottling. Finally, the wines were analyzed in a sensorial test to determinate the preference, being concluded that two wines (one red and one white) obtained the preference by the majority of the consumers that responded to this test.

**Keywords:** Alcoholic fermentation, Malolactic fermentation, Microorganisms, Wine chemistry, White wine, Red wine.



## Índice

Agradecimentos.....	V
Resumo.....	VII
Abstract .....	IX
Índice.....	XI
Índice de Figuras .....	XIII
Índice de Tabelas.....	XV
Abreviaturas .....	XVII
1. Introdução .....	1
1.1. Aspectos Gerais Sobre a Produção de Vinho em Portugal.....	1
1.2. A Adega Cooperativa de Palmela.....	4
1.2.1. Localização e Organização da Empresa .....	4
1.2.2. Processo Produtivo .....	7
1.2.2.1. Vinhos Brancos .....	7
1.2.2.2. Vinhos Tintos e Rosés.....	9
1.2.2.3. Vinhos Generosos e Licorosos .....	10
1.2.2.4. Aguardentes.....	11
1.2.3. Qualidade e Segurança Alimentar .....	11
1.3. Composição Química e a Microbiologia do Vinho: A Importância das Fermentações nas Características do Produto.....	12
1.3.1. Composição Química do Vinho .....	12
1.3.2. A Microbiologia do Vinho e Alterações Químicas Durante as Fermentações .....	17
1.3.2.1. Fermentação Alcoólica.....	18
1.3.2.2. Fermentação Maloláctica.....	20
2. Materiais e Métodos .....	25
2.1. Amostras.....	25
2.2. Métodos de Determinação de Parâmetros Físicos e Químicos.....	25

2.2.1. Acidez Volátil.....	25
2.2.2. Acidez Total .....	27
2.2.3. pH.....	27
2.2.4. SO <sub>2</sub> Livre.....	28
2.2.5. SO <sub>2</sub> Total .....	28
2.2.6. Teor Alcoólico.....	29
2.2.7. Massa Volúmica .....	30
2.3. Análises Microbiológicas .....	30
2.4. Prova Sensorial.....	32
2.5. Análise Estatística .....	33
3. Resultados e Discussão .....	35
3.1. Parâmetros Físicos e Químicos .....	35
3.2. Análises Microbiológicas .....	44
3.3. Análises Sensoriais.....	46
4. Conclusão.....	49
Bibliografia.....	53
ANEXO I : Fluxograma Simplificado de Produção de Vinho Branco .....	59
ANEXO II : Fluxograma Simplificado de Produção de Vinho Tinto .....	63
ANEXO III: Tabela de Correção da Massa Volúmica .....	67
ANEXO IV: Resultados de Análises Microbiológicas .....	69
ANEXO V: Inquérito de Preferência .....	71
ANEXO VI: Resultados dos Provas Sensoriais .....	75

## Índice de Figuras

Figura 1: Evolução da produção de vinho em Portugal, excluindo o vinho licoroso com DOP Porto e Madeira.....	1
Figura 2: Evolução das exportações de vinho engarrafado, excluindo vinho licoroso com DOP Porto e Madeira.....	2
Figura 3: Factores de qualidade organoléptica dos vinhos.....	3
Figura 4: Edifício da ACP .....	5
Figura 5: Organização da ACP .....	5
Figura 6: Mapa da ACP .....	6
Figura 7: Evolução da produção de compostos durante a fermentação alcoólica .....	14
Figura 8: Produção de etanol e ácido acético em função da concentração inicial de açúcares no mosto de uva .....	19
Figura 9: Gráfico de evolução dos teores de açúcares, antocianinas e etanol no mosto durante a fermentação e evolução do número de leveduras.....	20
Figura 10: Evolução do pH durante a FML.....	21
Figura 11: Evolução de vários compostos e da densidade do mosto durante a FML.....	22
Figura 12: Montagem do equipamento para o método <i>Mathieu</i> . .....	26
Figura 13: Equação para cálculo da acidez volátil (AV).....	27
Figura 14: Equação para cálculo da acidez total (AT). .....	27
Figura 15: Equação para cálculo do teor de SO <sub>2</sub> livre.....	28
Figura 16: Equação para cálculo do teor de SO <sub>2</sub> total.....	29
Figura 17: Equipamento para medição do grau alcoólico.....	29
Figura 18: Conversão da pT em p20.....	30

Figura 19: Evolução da acidez volátil. ....	35
Figura 20: Análise da acidez volátil pelo teste ANOVA.....	36
Figura 21: Evolução da acidez total. ....	37
Figura 22: Análise da acidez total pelo teste ANOVA.....	38
Figura 23: Evolução do pH no vinho. ....	39
Figura 24: Análise do pH pelo teste ANOVA.....	40
Figura 25: Interação entre os diferentes componentes do SO <sub>2</sub> . ....	40
Figura 26: Evolução do grau alcoólico no vinho.....	42
Figura 27: Análise do grau alcoólico pelo teste ANOVA.....	43
Figura 28: Evolução da massa volúmica do vinho.....	43
Figura 29: Análise da massa volúmica pelo teste ANOVA.. ....	44
Figura 30: Diagrama da evolução microbiana no vinho desde a fermentação alcoólica até ao armazenamento.....	45
Figura 31: Dendrograma de quatro vinhos de acordo com os resultados obtidos nas análises sensoriais. ....	47

## Índice de Tabelas

Tabela 1: Teores médios dos constituintes essenciais do vinho.....	13
Tabela 2: Taxa de combinação do SO <sub>2</sub> com substâncias variadas que compõem os vinhos e mostos..	17
Tabela 3: Especificações de alguns parâmetros analíticos para o produto final engarrafado.....	25
Tabela 4: Amostras para análise microbiológica.....	31
Tabela 5: Valores médios das análises à acidez volátil dos vinhos.....	36
Tabela 6: Valores médios das análises à acidez total dos vinhos.....	37
Tabela 7: Valores médios das análises de pH. ....	39
Tabela 8: Quantificação do teor de SO <sub>2</sub> livre e total .....	41
Tabela 9: Valores médios do teor de etanol dos vinhos. ....	42
Tabela 10: Valores médios da massa volúmica dos vinhos.....	44
Tabela 11: Valores médios de microrganismos contabilizados.....	45
Tabela 12: Apreciação dos vinhos.....	46



## Abreviaturas

ACP – Adeg Cooperativa de Palmela

CP – Componente Principal

DOC – Denominação de Origem Controlada

DOP – Denominação de Origem Protegida

FML – Fermentação Maloláctica

HACCP – *Hazard analysis and critical control points* (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo)

INE – Instituto Nacional de Estatística

OIV – Organização Internacional da Vinha e do Vinho

VB – Vinho Branco

VBR – Vinho Branco Regional

VT – Vinho Tinto

VTR – Vinho Tinto Regional



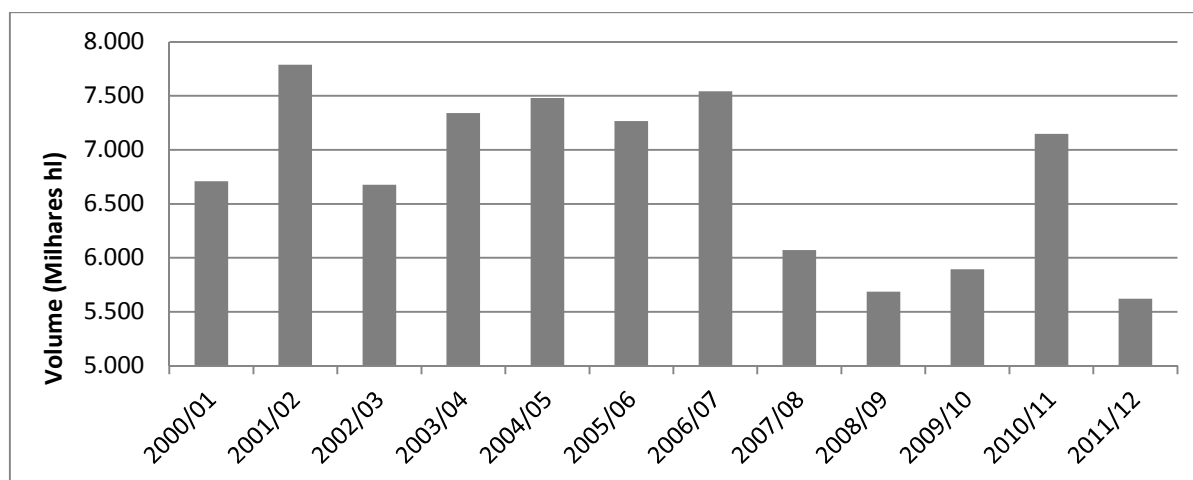
## 1. Introdução

### 1.1. Aspectos Gerais Sobre a Produção de Vinho em Portugal

O vinho é uma das bebidas alcoólicas mais consumidas no Mundo justificando-se assim o aumento da produção mundial, que se tem verificado ao longo dos anos, e do número de países produtores, empresas e diversidade de vinhos no mercado.

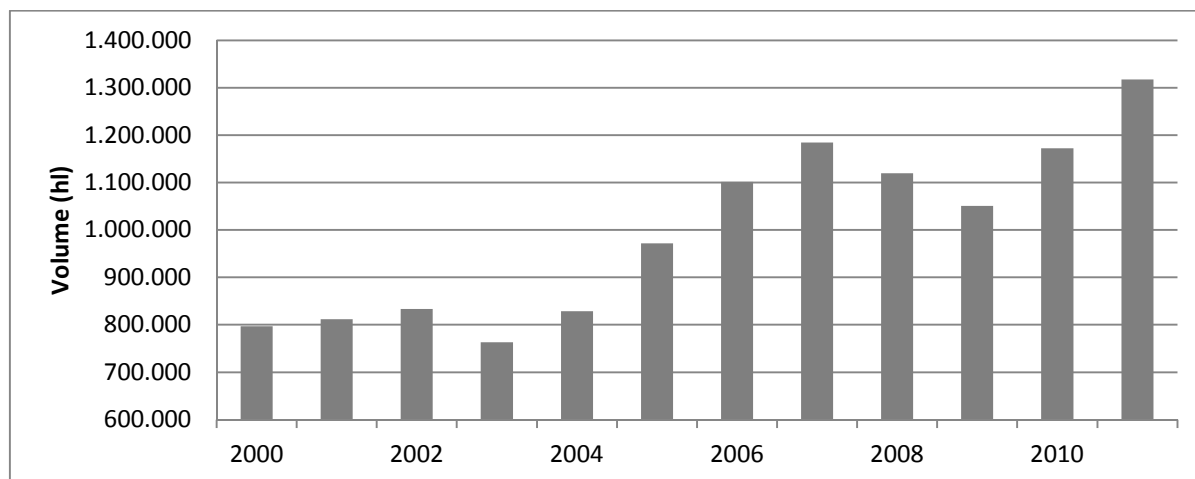
A cultura da vinha e do vinho remonta os 6000 a.C. (Keys, 2003), sendo considerada a actividade mais antiga da civilização. Com o avançar dos anos a produção de vinho, começou a ter um grande peso na economia, e tornou-se também numa actividade de importância cultural e social através da mobilização das comunidades na apanha e no esmagamento da uva. Hoje, apesar da produção de vinho estar mais modernizada e mecanizada, a cultura do vinho continua muito presente através de eventos sociais de promoção e dinamização dos vinhos envolvendo encontros entre produtores, concursos e provas de vinhos.

Em Portugal, estas tendências de evolução também se verificaram. Com uma tradição vitivinícola mais antiga que a fundação do país, Portugal tem sido sinónimo de vinhos de qualidade e de notável reputação quer nos mercados nacionais quer nos mercados internacionais. A figura 1 mostra a evolução da produção de vinho nos últimos 12 anos que, apesar de elevada, tem sido inconstante nos últimos anos. Estas variações podem ser explicadas pelas condições climáticas e doenças das vinhas, mas, apesar disso, o país continua a ser autossuficiente em vinho. Segundo o Instituto Nacional de Estatística (2013), o grau de aprovisionamento em 2011/2012 foi de cerca de 104,2%, sendo as regiões do Douro e Alentejo as que mais contribuem para o volume total de produção.



**Figura 1:** Evolução da produção de vinho em Portugal, excluindo o vinho licoroso com DOP Porto e Madeira (Fonte: Instituto da Vinha e do Vinho, 2013)

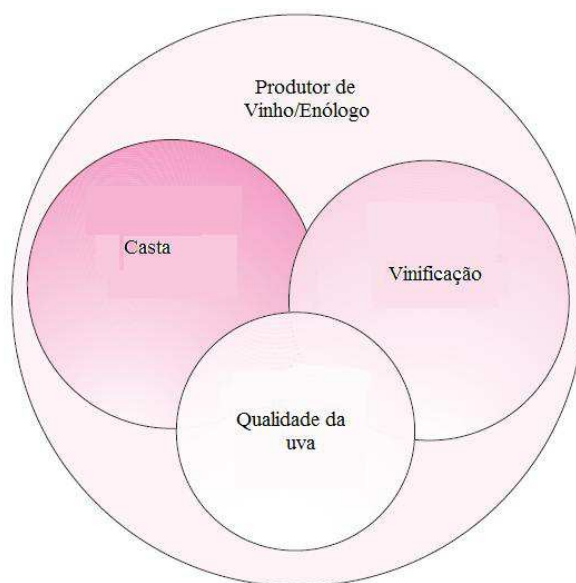
No que toca às exportações, o aumento gradual destas ao longo dos anos (Figura 2) tem contribuído para a economia e para a valorização do produto nacional, sendo os principais destinos a Angola, os Estados Unidos da América e a Europa. Contudo, as exportações continuam a representar uma parte pequena da produção visto que a maior parte se destina ao consumo interno.



**Figura 2:** Evolução das exportações de vinho engarrafado, excluindo vinho licoroso com DOP Porto e Madeira (Fonte: Instituto da Vinha e do Vinho, 2012)

Na produção de vinhos existem muitos factores que condicionam não só o volume de vinho produzido, mas também a qualidade do produto final, como por exemplo a região da produção, a cultura da vinha, as castas e os processos de produção do vinho. Assim, com o objectivo de atingir a qualidade, muitos têm tentado defini-la. Em 1959, Larrea Redondo (*in* Curvelo-Garcia, 1988) afirmou que “a qualidade de um vinho é o conjunto das suas qualidades ... isto é, o conjunto das suas propriedades que o tornam aceitável ou desejável para o consumidor, o qual não tem em conta os seus dados analíticos, mas é impressionado pelas suas particularidades que actuam agradavelmente sobre os seus sentidos”. Esta definição revela o grau de importância do consumidor para a definição de qualidade, muito embora persista um elevado grau de subjectividade de pessoa para pessoa, nomeadamente face aos aromas, sabores, a cor e o aspecto do produto engarrafado. É também muito importante o papel do enólogo no desenvolvimento dos vinhos e no controlo do processo de fabrico (Curvelo-Garcia, 1988).

De acordo com Ronald Jackson (2002) a afirmação “sem o enólogo não existe vinho” mostra a importância do enólogo no controlo sensorial do mesmo e na capacidade de alterar as características originais das castas para obter um produto equilibrado e que possa ser aceite pelo consumidor. Na figura 3, estão listados os factores mais importantes para a qualidade organoléptica de um vinho em que o enólogo é o factor principal e actua sobre todos os outros (casta, vinificação e qualidade da uva).



**Figura 3:** Factores de qualidade organoléptica dos vinhos. A dimensão de cada círculo mostra peso de cada factor para as características sensoriais dos vinhos. O factor mais importante é o enólogo, a seguir o factor que mais influencia a qualidade do vinho é a qualidade da uva, depois o modo de vinificação e o que menos contribui é a casta (Adaptado de Jackson, 2002).

Assim, para controlar a qualidade do vinho durante todo o processo de fabrico, prevalece a legislação Portuguesa e Europeia que impõem regras de fabrico e que também, consequentemente, garantem a segurança alimentar usando como ferramentas as análises químicas, físicas, microbiológicas e as análises sensoriais. É também importante compreender as reacções químicas e bioquímicas que ocorrem durante o processo, nomeadamente nas etapas fermentativas, e de que forma afectam a qualidade do vinho.

Este trabalho teve como objectivo analisar a evolução de alguns parâmetros químicos e físicos do vinho (acidez volátil, acidez total, pH, SO<sub>2</sub> livre, SO<sub>2</sub> total, teor alcoólico e massa volúmica) desde a produção do lote até ao engarrafamento, analisar microbiologicamente o produto final e verificar a aceitação do produto por análise sensorial/inquérito de aceitação. Para isso foram usados dois vinhos brancos e dois vinhos tintos diferentes num estudo comparativo entre eles e também com resultados de outros trabalhos científicos.

## **1.2. A Adega Cooperativa de Palmela**

### **1.2.1. Localização e Organização da Empresa**

A Adega Cooperativa de Palmela (também conhecida com “Adega de Palmela”), nos últimos anos, vem destacando-se no mercado de produção de vinhos de qualidade, sendo considerada uma empresa muito importante e impulsionadora do desenvolvimento agrícola da região da Península de Setúbal.

Situada a sul de Lisboa, a Península de Setúbal possui uma ligação muito antiga com a cultura da vinha, a produção e o comércio do vinho. Ao longo dos tempos a produção de vinho tornou-se de extrema importância para a região e um dos produtos mais exportados, mas segundo a história da região (descrita na página de *internet* da Comissão Vitivinícola Regional da Península de Setúbal) só no século XIX é que adquiriu a notoriedade com a produção de um vinho generoso de grande qualidade que viria a caracterizar toda a península: o “Moscatel de Setúbal”. É também uma região com um clima muito propício à cultura da vinha pois o microclima formado pela Serra da Arrábida e a proximidade do mar protegem as uvas dos climas extremos promovendo a óptima maturação do fruto (Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, 2012).

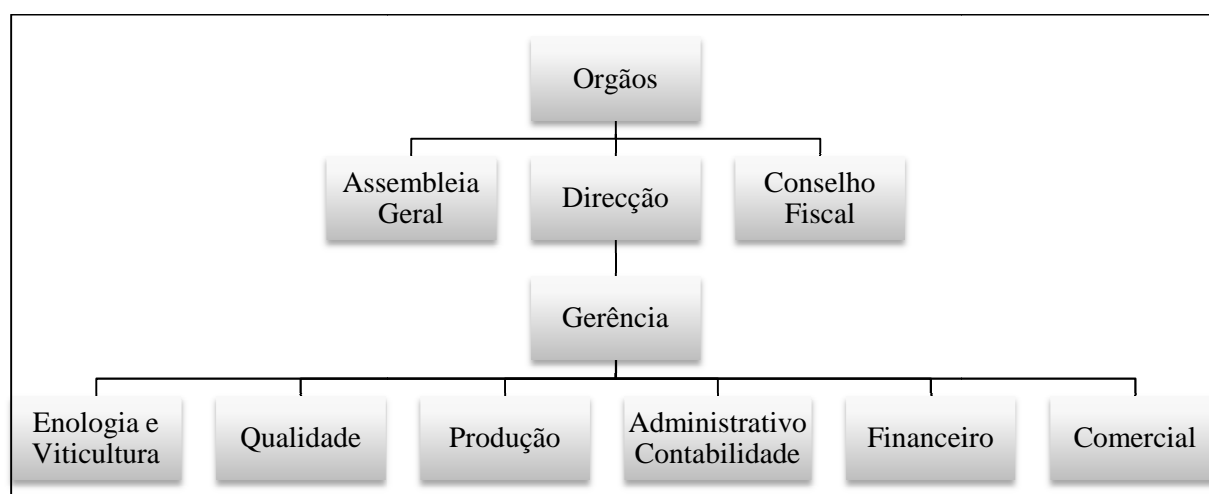
Os vinhos desta região são maioritariamente tintos da casta Castelão e caracterizam-se por serem encorpados e de aromas leves a especiarias e frutos silvestres enquanto os vinhos brancos, produzidos numa percentagem mais pequena, são geralmente produzidos a partir das castas Fernão Pires ou Moscatel, conferindo aos vinhos aromas frutados. Apesar de o “Moscatel de Setúbal” ser o vinho mais famoso da região, a qualidade dos vinhos tintos e brancos não tem passado despercebida. Segundo o portal do Instituto da Vinha e do Vinho, esta elevada qualidade levou à demarcação da Península de Setúbal com as Denominações de Origem Controlada (DOC) “Setúbal” para vinhos generosos e “Palmela” para todos os restantes tipos de vinhos.

A Adega de Palmela (Figura 4) iniciou a sua actividade em 1958 como uma cooperativa de 50 associados e uma produção máxima de 1,5 milhões de litros de vinho/ano. Actualmente conta com 350 associados o que corresponde a 1200 ha de vinha e 8 milhões de litros/ano, sendo que cerca de 75% são vinhos tintos, 15% vinhos brancos e 10% Moscatel de Setúbal (Adega Cooperativa de Palmela: Plano HACCP, 2012).



**Figura 4:** Edifício da ACP [1]

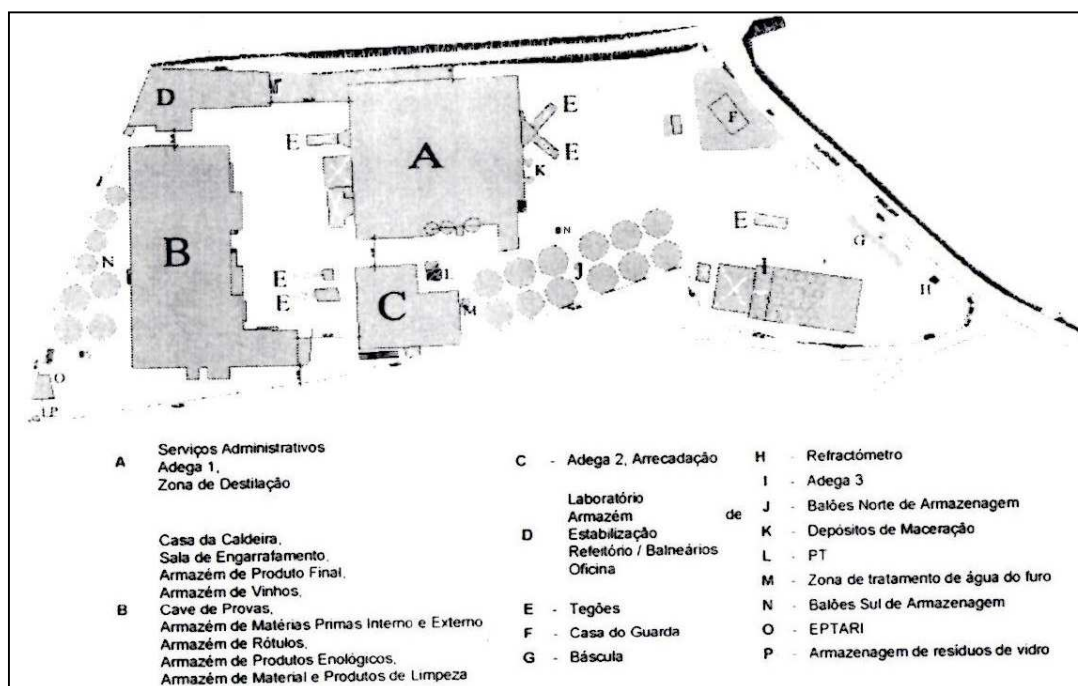
Para além dos órgãos principais (Assembleia Geral, a Direcção - responsável pela gerência - e o Conselho Fiscal), a Adega está organizada por vários departamentos (Figura 5): o Departamento de Enologia e Viticultura, que apoia os associados e a vindima assim como a preparação dos lotes, estabilização, filtração e conservação do vinho e o controlo laboratorial do mesmo; o Departamento de Qualidade responsável pelo controlo da Higiene e Segurança no Trabalho, HACCP e, conseqüentemente, o controlo laboratorial do produto; o Departamento de Produção que é responsável pelo engarrafamento do vinho, controlo das matérias-primas e do produto acabado e pela manutenção das máquinas, caldeira e sanitização das mesmas; o Departamento Administrativo e de Contabilidade (recursos humanos, facturação, secretariado, tesouraria e relações públicas); o Departamento Financeiro e o Departamento comercial (vendas, clientes e publicidade) (Adega Cooperativa de Palmela: Manual da Qualidade, 2012).



**Figura 5:** Organização da ACP (Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Manual da Qualidade, 2012)

A figura 6 mostra a organização dos edifícios que constituem a ACP e que têm as seguintes funções (Adega Cooperativa de Palmela: Plano HACCP, 2012):

- Laboratório, escritórios, loja (para venda directa ao público e para outras lojas), refeitório, balneários.
- Sala de engarrafamento. Esta sala está equipada com 4 linhas de enchimento com capacidade para engarrafar 10.000 garrafas/hora e volumes variados (1L; 0,75 L; 37,5 dl; 25 dl; 6cl e *bag-in-box*<sup>1</sup> de 20, 10 e 5L).
- Adegas: edifícios estruturados com depósitos de vinho onde ocorre a vinificação.
- Sala de armazenamento do produto final e também armazém de rótulos e matérias subsidiárias.
- Sala de estabilização.
- Tegões para descarga da uva.



**Figura 6:** Mapa da ACP (Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Plano HACCP, 2012).

A ACP engarrafa durante todo o ano podendo mesmo engarrafar pouco tempo após a vindima. A gama de produtos produzidos e engarrafados é variada, desde: vinhos Regionais brancos, tintos e rosés; vinhos DOC tintos e brancos, vinhos de Mesa tintos, brancos e rosés; "Moscatel de Setúbal" e Moscatelitos; Aguardente Bagaceira e Vinho Licoroso Abafado.

<sup>1</sup> *Bag-in-box*: saco de vinho hermeticamente fechado com uma torneira colocado dentro de uma caixa de cartão que lhe serve de apoio.

Apesar de actuar principalmente no mercado nacional (com vinho engarrafado e a granel), a ACP tem mostrado os seus vinhos em vários concursos internacionais onde tem alcançado o reconhecimento pela qualidade dos produtos apresentados o que pode, eventualmente, abrir as portas à exportação.

### 1.2.2. Processo Produtivo

O processo de produção de vinho tem, ao longo dos anos, sofrido uma grande evolução para acompanhar o ritmo de produção e consumo. Assim, as máquinas e os métodos, apesar de terem o mesmo princípio e a mesma função de há muitos anos, têm agora mais um propósito: tornar o processo mais rápido e menos dependente de mão-de-obra.

A ACP faz a vinificação a cada campanha com as uvas provenientes dos seus associados e planeia a sua produção de acordo com a qualidade, peso e casta da uva vindimada bem como nas tendências do mercado.

#### 1.2.2.1. Vinhos Brancos

Tal como foi descrito antes, a ACP produz vários tipos de vinho branco: o vinho de mesa, o vinho regional e o vinho DOC. As características organolépticas associadas a estes vinhos diferem consoante a casta utilizada no processo. Assim: o vinho branco DOC (castas Fernão Pires e Moscatel) possui um aroma frutado, um tom amarelo mais intenso do que os restantes e de sabor ligeiramente encorpado e de boa acidez; o vinho Regional (casta: Moscatel) apresenta uma cor amarelo citrino e aromas e sabores característicos da casta moscatel (doce e frutado) e o vinho branco DOC é um vinho fresco, ligeiramente ácido e de aroma frutado.

Estes vinhos também apresentam diferenças ao nível das operações tecnológicas. No processo de fabrico do vinho branco, as etapas mais importantes são (Grainger, *et. al.*, 2005; Adega Cooperativa de Palmela: Plano HACCP, 2012; Anexo I):

- **Recepção e Descarga no Tegão.** Na recepção da uva ocorre o primeiro controlo de qualidade para a produção de vinho. Este controlo define a ordem de descarga e o tipo de vinho que as uvas irão dar origem e baseia-se no grau alcoólico provável e peso das uvas bem como no resultado da inspecção visual à presença de corpos estranhos e do estado sanitário das uvas.
- **Desengace e Esmagamento.** Após a descarga no tegão, as uvas sofrem um processo de desengace para remoção da parte lenhosa do cacho e um processo de esmagamento para quebrar a película da uva e promover o arejamento que facilita a multiplicação de leveduras. Os vinhos são trasfegados para depósitos onde são mantidos a temperaturas entre 14 e 16°C. É

adicionado à polpa SO<sub>2</sub> para o proteger de contaminações microbianas e também enzimas de extracção aromática e ácido tartárico até pH 3.3 – 3.4.

- **Prensagem.** A prensagem é feita com recurso a uma prensa de impulsão (no caso dos vinhos de mesa) ou pneumática (para vinhos regionais e DOC) e pretende-se a libertação do sumo separando-o das películas e grainhas. Deve ser um processo delicado para que as grainhas e as películas não sejam quebradas nem rompidas, impedindo-se assim a respectiva incorporação no mosto (vinificação de bica aberta: uvas levemente esmagadas e fermentação sem contacto pelicular).
- **Flotação.** Após a prensagem, o mosto sofre um processo de flotação que consiste na separação do mosto da borra, ou seja dos sólidos em suspensão e depositados que, para além de dificultarem o processo de vinificação, também podem ser responsáveis por características organolépticas indesejáveis. Nesta fase adiciona-se gelatina alimentar que serve como clarificante do mosto e eleva-se a temperatura até aos 20°C (durante 1 hora) facilitando assim agregação das partículas em suspensão (de menor dimensão) e conseqüentemente a sua eliminação. Após esta etapa, o mosto é arrefecido para manutenção dos aromas e impedir uma fermentação prematura.
- **Fermentação alcoólica.** A fermentação é um processo natural de transformação dos açúcares das uvas em etanol. Este processo ocorre a menos de 18°C, permitindo assim manter os aromas característicos das uvas, e dura 10 a 15 dias. Nesta fase são adicionadas leveduras, de acção conhecida, e activantes de fermentação que permitem, para além de um processo completo e uniforme um resultado certo e previsível.
- **Trasfega.** Processo de transferência do vinho para um novo depósito. Após a fermentação alcoólica, o vinho é transferido para um depósito de armazenamento e decantação e mantido entre 15 e 17°C. Depois, é novamente trasfegado permitindo a remoção das partículas que se encontram no fundo – borras. É imprescindível que o vinho não esteja em contacto com o ar de modo a evitar a oxidação. Assim, para impedir que tal ocorra deve-se atestar o depósito com vinho do mesmo lote ou da mesma qualidade.
- **Escolha e estudo do lote.** Permite a uniformização das características dos vinhos de acordo com as especificações. Nesta fase o vinho pode sofrer vários processos de alteração do aroma como por exemplo a adição de madeiras, mistura de vinhos de castas diferentes, etc.
- **Clarificação.** Este processo tem como propósito a eliminação de impurezas em suspensão por coagulação e formação de partículas mais densas que sedimentam. Neste caso o produto clarificante usado é a bentonite.

- **Estabilização pelo frio.** Um dos componentes do vinho é o ácido tartárico que, a baixas temperaturas, cristaliza e apesar de a qualidade organoléptica não sofrer grandes alterações, o aspecto é depreciativo para o consumidor. Assim, de modo a prevenir a formação destes cristais depois do engarrafamento, o vinho é arrefecido rapidamente para temperaturas entre 4,5 e -5,5 °C durante cerca de uma semana. Depois, o vinho é filtrado para remoção dos cristais. Esta etapa permite também a manutenção da cor e da limpidez do vinho.
- **Filtração e homogeneização.** O vinho passa então por uma série de filtrações e homogeneizações de modo a reter a maior quantidade possível de elementos em suspensão e impurezas. Para concretizar as filtrações recorre-se a filtração de terras de infusórios, de placas e de membrana antes do engarrafamento. Também antes do engarrafamento adiciona-se CO<sub>2</sub> e ácido ascórbico.
- **Engarrafamento.** É adicionado, aos vinhos regionais e DOC, CO<sub>2</sub> para gasifica-los. O engarrafamento decorre durante todo o ano logo após a vindima e os vinhos regionais e DOC em garrafas de vidro de 0,75 L ou 0,35 L e rolhados com rolha de cortiça.

#### 1.2.2.2. Vinhos Tintos e Rosés

Os vinhos tintos produzidos na ACP podem ser de três tipos: vinho de mesa (casta: Castelão; aromas de frutos silvestres que diminui de intensidade com a idade, encorpado; 12,5% Vol.); vinho regional (castas: Castelão ou *Syrah*; cor rubi intensa; aromas de frutos silvestres; muito encorpado e bom equilíbrio de acidez; 13,5% Vol.) e vinho DOC (castas Catelão; *Cabernet Sauvignon*; Trincadeira e Aragonês; cor intensa; aroma de frutos secos e silvestres; corpo intenso; 13,5% Vol.).

Em relação ao processamento (Grainger, *et. al.*, 2005; Adega Cooperativa de Palmela: Plano HACCP, 2012; Anexo II), a fermentação alcoólica ocorre antes da prensagem e, ao contrário do que acontece no vinho branco, ocorre com arejamento controlado e em contacto com as películas e as grainhas das uvas (fermentação com curtimenta) para extracção da cor. Este processo ocorre a temperaturas entre 20-25°C, ou mesmo superiores, durante 5 a 10 dias para vinhos correntes, ou 25 dias em vinhos mais elaborados. Nesta fase do processo são utilizadas leveduras, taninos e enzimas de extracção de cor. Após a fermentação, o vinho tinto é trasfegado separando-se assim o vinho de gota (que origina o vinho Regional e DOC) do vinho de prensa (obtendo-se o vinho de mesa) e ambos são transferidos para depósitos de armazenamento antes de sofrerem fermentação maloláctica (FML).

A FML consiste na transformação, por acção de bactérias lácticas, do ácido málico em ácido láctico obtendo-se a redução da acidez do vinho. Após a trasfega, o vinho destinado a vinho DOC é envelhecido em cascos enquanto os restantes continuam o processo. Depois da escolha e estudo do

lote, o vinho é homogeneizado e armazenado sofrendo sucessivas filtrações até ao engarrafamento (filtração com terras de infusórios e com placas repetindo-se, antes do engarrafamento, a filtração de placas). Sempre que necessário, o vinho sofre um processo de clarificação com bentonite e gelatina e estabilização pelo frio. É engarrafado durante todo o ano, nos mesmos moldes que os vinhos brancos.

Nos vinhos rosés, a uva utiliza-se uva tinta (utilizada também em vinhos tintos) da casta Castelão. No entanto, o processo de fabrico é muito semelhante à produção de vinho branco o que faz com que este vinho não tenha as características tão acentuadas de um vinho tinto da mesma casta. Assim, os rosés, apresentam uma cor levemente rosada e sabores frutados e frescos com teor alcoólico entre 11 e 13.5% Vol. Nestes vinhos, a vinificação é feita sem contacto pelicular e a temperaturas inferiores a 18°C durante 10 a 15 dias. Sofre, tal como nos restantes vinhos, processos de clarificação com bentonite, estabilização pelo frio e várias filtrações até ao engarrafamento. Antes da última filtração é adicionado CO<sub>2</sub> ao vinho (Grainger, *et. al.*, 2005; Adeg Cooperativa de Palmela: Plano HACCP, 2012).

Tanto os vinhos de qualidade como os vinhos regionais, quer sejam brancos, tintos ou rosés, são submetidos a análises físico-químicas por uma empresa externa com o objectivo de garantir a sua qualidade como vinhos certificados.

### **1.2.2.3. Vinhos Generosos e Licorosos**

O vinho generoso “Moscatel de Setúbal” é o vinho característico da região. Produzido a partir de uva moscatel (também designada por casta Moscatel de Alexandria) este vinho o sabor doce e o aroma frutado característico da casta. Apresenta um teor alcoólico superior aos vinhos brancos, tintos e rosés que pode atingir os 18%. A sua produção envolve uma fermentação com contacto peculiar que é interrompida com a adição de aguardente vínica (77%) que aumenta o teor alcoólico mas sem degradar a totalidade dos açúcares que permanecem no vinho (daí o sabor doce). Após a fermentação, ocorre uma maceração pelicular durante mais de 3 meses. O vinho sofre um processo de clarificação, estabilização pelo frio e várias filtrações. O engarrafamento ocorre cerca de 24 meses após a vinificação.

O vinho licoroso abafado é muito semelhante ao Moscatel de Setúbal nas suas características. Apresenta uma cor dourada, um aroma frutado e um sabor doce. Contudo a uva utilizada neste caso é da casta Fernão Pires e o processo não envolve fermentação e a maceração pelicular nunca é inferior a 1 mês. O vinho sofre um processo de clarificação, estabilização pelo frio e várias filtrações sendo engarrafado ao longo do ano (Adeg Cooperativa de Palmela: Plano HACCP, 2012).

#### **1.2.2.4. Aguardentes**

A Aguardente Bagaceira nova não é produzidas na ACP. A destilação é feita por uma empresa externa e a Adega apenas realiza os restantes processos até ao engarrafamento como: recepção e desdobraimento para um teor alcoólico entre 40,5-43% Vol.; colagem e desodorização; estabilização pelo frio, filtrações. O engarrafamento decorre ao longo do ano.

Em relação à Aguardente Bagaceira envelhecida, o processo é semelhante ao da Aguardente Bagaceira nova mas, tal como a Aguardente Vínica velha, a ACP já não as produz (Adega Cooperativa de Palmela: Plano HACCP, 2012).

#### **1.2.3. Qualidade e Segurança Alimentar**

Na produção de vinhos, é indispensável o controlo da qualidade do produto e da produção em todas as etapas de fabrico desde o controlo visual das uvas na descarga, passando pelo controlo das características químicas, físicas e microbiológicas do vinho até à inspecção visual do produto engarrafado e armazenado. Assim, os pontos de controlo e os seus resultados são as ferramentas mais importantes no controlo e manutenção da qualidade do produto. No caso da ACP, o controlo da qualidade do vinho é feito (Adega Cooperativa de Palmela: Fluxograma do processo de produção de vinhos brancos, 2011; Adega Cooperativa de Palmela: Fluxograma do processo de produção de vinhos tintos, 2011):

- Antes da produção, no acompanhamento das produções vinícolas e a inspecção visual das uvas na chegada à adega bem como o cálculo do grau provável;
- Durante o processo de fabrico, os pontos de controlo existentes permitem o controlo periódico da evolução do produto de modo a prevenir acidentes e erros que possam ocorrer ou permitir a correcção atempada das características do vinho. Tem como base análises químicas, físicas e microbiológicas e também a inspecção visual do produto e análises sensoriais;
- Recorrendo a análises externas para atribuição da certificação, realizadas por uma empresa externa;
- Depois do fabrico, mediante o controlo do processo de engarrafamento, controlo do volume de vinho nas garrafas, controlo do vinho engarrafado e armazenado. Efectuam-se ainda análises químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais ao produto engarrafado.

Para além do controlo da qualidade do produto, a ACP faz também um controlo de segurança alimentar através de (Adega Cooperativa de Palmela: Manual de Qualidade, 2007):

- Análises externas, de frequência anual, às características físico-químicas das águas utilizadas e pesquisa de micotoxinas, nomeadamente ocratoxina A, nos vinhos tintos e brancos logo após a campanha;
- Planos HACCP, higiene pessoal, combate às pragas e limpezas;
- Utilização das análises de rotina (físicas, químicas e microbiológicas) como ferramenta auxiliar na detecção de irregularidades que possam afectar a segurança do produto. Estas análises são realizadas não só ao vinho mas também a todos os materiais utilizados, equipamentos, máquinas, águas, tubagens, depósitos, meio ambiente, etc, como forma de controlo da higiene e limpeza evitando assim contaminações cruzadas;
- Auditorias externas e internas.

De referir também que a ACP é, desde 2003, uma empresa certificada pela NP EN ISO 9001.

### **1.3. Composição Química e a Microbiologia do Vinho: A Importância das Fermentações nas Características do Produto**

#### **1.3.1. Composição Química do Vinho**

A composição química do vinho tem sido objecto de estudo durante muitos anos, mas só a partir dos finais da década de sessenta é que o avanço nestes estudos tornou-se significativo. Contudo, o vinho continua a ser um meio muito complexo e a sua composição depende tanto dos componentes provenientes das uvas como das interacções entre estes que ocorre durante a produção do vinho. Estas interacções podem ter implicações não só na estabilidade química do vinho mas também na qualidade sensorial, sendo muitas vezes difícil prever o quanto esta última é afectada. Consequentemente, existem ainda muitos componentes por identificar sem se saber qual o seu contributo para o produto final (Curvelo-Garcia, 1988). Assim, apesar de os teores variarem de vinho para vinho, a composição química está associada à presença de compostos como o etanol e o ácido acético (Tabela 1).

**Tabela 1:** Teores médios dos constituintes essenciais do vinho (Navarre, 1997).

	<b>Constituintes</b>	<b>Proporções/dm<sup>3</sup></b>	<b>Observações</b>
<b>Gás dissolvido</b>	CO <sub>2</sub>	0,2-0,7g	Mais nos vinhos novos Legislação <sup>2</sup>
	SO <sub>2</sub> Total	80-200 mg	
	SO <sub>2</sub> Livre	10-50 mg	Mais nos vinhos frágeis
<b>Produtos Voláteis</b>	Água	700-900 g	23% Vinhos especiais
	Álcool Etílico	8,5-17% Vol.	
	Álcoois Superiores	0,15-0,50 g	
	Acetaldeído	0,005-0,5 g	Segundo o modo vinificação
	Ésteres	0,5-1,5 g	
	Ácidos Voláteis (ácido acético)	0,3-0,5 g	
<b>Produtos Fixos</b>	Açúcares	0,8-180g	Segundo o modo vinificação
	Glicerol	5-12g	
	Taninos e matérias corantes	0,4-4g	
	Gomas e matérias pécticas	1-3g	Segundo o tipo de vindima
<b>Ácidos Orgânicos</b>	Tartarato	5-10g	Depende da origem da uva
	Málico	0-1g	Segundo a vinificação com ou sem FML
	Láctico	0,2-1,2g	
	Sucínico	0,5-1,5g	
	Cítrico	0-0,5g	Até 1g em vinhos especiais
<b>Ácidos Minerais</b>	Sulfatos	0,10-0,40g	
	Cloretos	0,02-0,25g	
	Fosfatos	0,08-0,50g	
<b>Metais</b>	Potássio	0,7-1,5g	
	Cálcio	0,06-0,9g	
	Cobre	0,0001-0,003	
	Ferro	0,002-0,005	
	Chumbo	<0,003g	

De acordo com a tabela 1, a água é o constituinte mais abundante quer nas uvas quer no vinho. Esta, para além de ser essencial nas reacções químicas que afectam o crescimento do bago, nas fermentações e no envelhecimento do vinho é também importante para a solubilidade dos outros constituintes, pois só os compostos, total ou parcialmente, solúveis em água é que são significativos para a composição do vinho (Jackson, 2008).

A composição em açúcares varia consoante a espécie de videira, variedade, estado de maturação e sanitário das uvas. Os principais açúcares das uvas são a frutose e a glucose mas existem outros açúcares em proporções mais pequenas (açúcares residuais) como por exemplo a ribose e a xilose. A importância dos açúcares no vinho está relacionada com o seu contributo para o sabor, quer através do seu sabor original quer por outros sabores obtidos a partir da metabolização de açúcares, álcoois superiores, esterres e aldeídos, mas principalmente no que respeita à fermentação alcoólica e ao seu papel na produção de etanol. Estão também associados ao escurecimento (reacções de *Maillard*) de alguns vinhos brancos e vinhos fortificados (provocado pela fervura do mosto ou durante o envelhecimento) (Jackson, 2008).

<sup>2</sup> Legislação aplicável para o teor de SO<sub>2</sub> total: Reg. (CE) n° 606/2009, Anexo I B.

<sup>3</sup> Corresponde a 0,366-0,61 g/dm<sup>3</sup> de ácidos voláteis expresso em ácido acético.

O álcool etílico, ou etanol, é sem dúvida um dos principais factores de qualidade de um vinho e as suas funções neste não se limitam somente à sua influência nas características organolépticas tendo também um papel muito importante no controlo microbiano e consequentemente na conservação do vinho (o aumento da concentração de etanol durante a fermentação inibe o crescimento microbiano) mantendo-o estável desde que na ausência de oxigénio e também promove a extracção de compostos da película e das grainhas, como é o caso das antocianinas (Jackson, 2008). O etanol não é um componente originário das uvas mas sim o principal produto da fermentação alcoólica sendo, depois da água, o principal componente do vinho. Os teores de etanol num vinho estão dependentes das condições do mosto durante a fermentação (temperatura, concentração de açúcares e tipo de levedura) que podem ser, ou não, favoráveis à acção das leveduras. A levedura mais usada na fermentação alcoólica é a *Saccharomyces cerevisiae*, que é particularmente resistente ao aumento da concentração de etanol e sintetiza 1% Vol. de etanol por cada 16,5-17g de açúcares (frutose e glucose) por litro de mosto (Cheynier, *et. al.*, 2010).

A fermentação também origina outros produtos para além do etanol como o glicerol, ácido succínico e álcoois superiores (Gutierrez, 1993). Estes últimos ocorrem em pequenas quantidades nos vinhos, contudo constituem cerca de 50% da sua composição volátil, excluindo o etanol e, quando combinados com ácidos orgânicos, há formação de esteres que também contribuem para o aroma. A produção de álcoois superiores está associada a práticas vitícolas, à presença de oxigénio, temperaturas elevadas, presença de partículas em suspensão no mosto, actividade metabólica de leveduras e bactérias. Alguns exemplos de álcoois superiores são, entre outros (Jackson, 2008): 1-propanol; 2-metil-1-propanol; 2-metil-1-butanol; 3-metil-1-butanol. A figura 7 mostra a evolução dos teores de alguns álcoois e outros subprodutos durante o processo de fermentação.

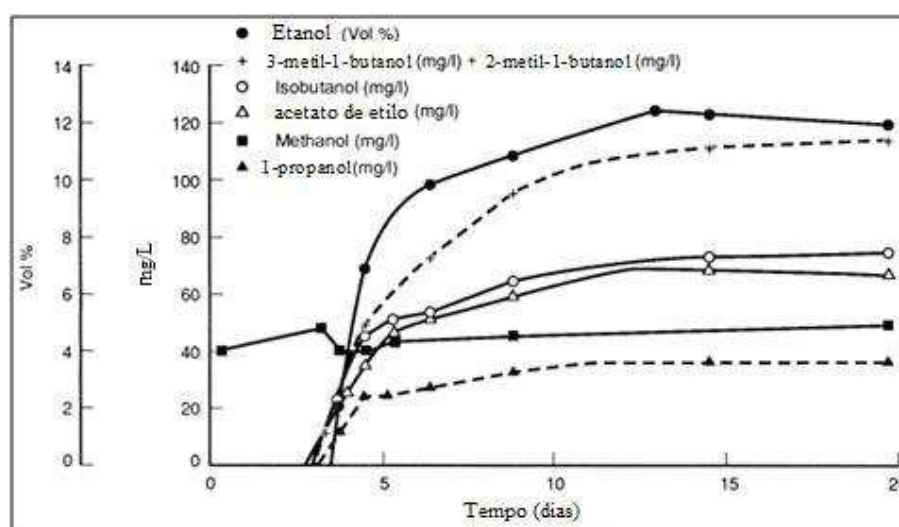


Figura 7: Evolução da produção de compostos durante a fermentação alcoólica (Adaptado de Jackson, 2008).

Em relação aos compostos ácidos, estes são quase tão importantes para o vinho como os álcoois no que respeita às qualidades organolépticas. Existem vários tipos de ácidos destacando-se:

- **Ácidos voláteis.** O ácido acético representa cerca de 90% da concentração total de ácidos voláteis (Curvelo-Garcia, 1988). Existe em quantidades muito pequenas nos mostos sendo formado principalmente durante a fermentação alcoólica pelas leveduras e, em concentrações pequenas está associado a aromas e sabores agradáveis mas, em concentrações elevadas, pode ser indício da presença um número muito elevado de bactérias acéticas, ou lácticas, ou da presença de oxigénio no mosto. A decomposição do ácido cítrico durante a FML e a maturação do vinho em barris de madeira também originam um aumento da quantidade de ácido acético. O teor em ácido acético varia consoante as condições durante a fermentação, a composição do mosto e a espécie de levedura. Em concentrações baixas, este ácido pode ser considerado um aditivo. Estes ácidos estão também associados à formação de esteres que atribuem ao vinho aromas frutados (sendo o mais abundante o acetato de etilo, subproduto da fermentação alcoólica). Subsistem ainda outros ácidos voláteis, nomeadamente: ácido butírico, ácido fórmico e ácido propiónico. Apesar destes ácidos estarem presentes no vinho, só são detectáveis quando em grandes concentrações, o que normalmente acontece quando o vinho contém um número elevado de bactérias (Jackson, 2008).
- **Ácidos orgânicos.** Afectam directamente a acidez (pH) e as características sensoriais do vinho. O ácido tartárico existente na uva e no vinho mantêm a sua concentração mesmo após a vindima. É utilizado para diminuir o pH e aumentar a acidez do vinho. A baixa temperatura e o armazenamento prolongado do vinho pode levar à formação de cristais que devem ser removidos pelo processo de estabilização pelo frio. O ácido málico constitui cerca de 50% da acidez total das uvas mas, ao contrário do ácido tartárico, vê a sua concentração decrescer com a maturação da uva, especialmente a temperaturas elevadas, o que pode causar um aumento acentuado do pH e assim promover a contaminação microbiana. O ácido láctico é o principal produto da FML. A fermentação não afecta a acidez total do vinho mas aumenta a variedade de ácidos presentes (Jackson, 2008).

Os ácidos têm como função principal a manutenção de um valor de pH baixo permitindo assim a estabilização da cor principalmente em vinhos tintos porque o aumento de pH provoca a descoloração das antocianinas, para além de que um pH baixo impede a contaminação microbiana.

Os fenóis são um grupo de compostos que influenciam a qualidade dos vinhos principalmente a cor destes mas também a sua aparência, sabor, aroma e propriedades antimicrobianas. Têm também propriedades antioxidantes e vitamínicas. A sua origem é variada podendo ser encontrados em várias

partes da videira nomeadamente na película e grainha das uvas. Existem vários tipos de compostos fenólicos como por exemplo:

- Flavonóides, compostos de cor amarelada que representam cerca de 85% do total de compostos fenólicos em vinhos tintos e menos de 20% em vinhos brancos;
- Antocianinas, pigmentos vermelhos localizados na película, no gomo e nas folhas;
- Taninos, localizados nas grainhas e outras partes sólidas

A concentração destes compostos tende a aumentar no início da fermentação se a polpa estiver em contacto com as películas e as sementes, mas, em alguns casos (como nas antocianinas), à medida que o vinho continua o seu processo até ao engarrafamento a concentração de fenóis vai diminuindo. A coloração destes pigmentos está dependente do pH e de SO<sub>2</sub> livre: com pH baixo a concentração dos pigmentos aumenta e a presença de SO<sub>2</sub> também permite aumentar a extracção de compostos fenólicos, no entanto, concentrações elevadas de SO<sub>2</sub> podem levar ao descoramento destes pigmentos (Jackson, 2008).

O SO<sub>2</sub> e o CO<sub>2</sub> são gases que se podem encontrar dissolvidos no vinho. O CO<sub>2</sub> é um subproduto da fermentação alcoólica produzido pelas leveduras à razão de 0,4-0,5g de CO<sub>2</sub> / g de açúcar consumido no entanto, apesar de grande parte deste gás ser libertado para a atmosfera, o mosto continua com grandes quantidades dissolvidas. A concentração tende a diminuir com o tempo não tendo qualquer efeito organoléptico. Se o vinho for engarrafado com elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> o vinho torna-se numa bebida gaseificada (como é o caso do vinho branco Regional e DOC e do vinho rosé Regional da ACP) (Jackson, 2008).

Em relação ao SO<sub>2</sub>, este existe naturalmente nos vinhos através do metabolismo das leveduras em concentrações inferiores a 10 mg/dm<sup>3</sup> (mas pode exceder os 30 mg/dm<sup>3</sup> em alguns casos) (Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006). Quando em grandes concentrações, este composto pode ter efeitos negativos na qualidade organoléptica do vinho e até mesmo efeitos tóxicos para a saúde humana, no entanto em pequenas quantidades, o SO<sub>2</sub> é um aditivo muito usado devido à sua: acção dissolvente, na extracção de compostos das células por exemplo compostos fenólicos; acção antioxidante, protegendo alguns componentes facilmente oxidáveis e assim previne a oxidação dos vinhos e mostos; portador de acção anti-diastásica, por inibir ou destruir algumas enzimas e acção antimicrobiana, pois apresenta um elevado poder antibacteriano e algum efeito sobre leveduras o que o tornam num excelente conservante de mostos e vinhos (Cardoso, 2007).

Existem várias fracções do SO<sub>2</sub>:

- A fracção livre, que é responsável pela acção antimicrobiana. De acordo com a Organização Internacional da Vinha e do Vinho (2012), esta fracção está presente nos vinhos e mostos nas formas: molecular ( $\text{H}_2\text{SO}_3$ ), bissulfito ( $\text{HSO}_3^-$ ) e sulfito ( $\text{SO}_3^{2-}$ ). A forma molecular é a forma activa do  $\text{SO}_2$  e é a que possui a actividade antimicrobiana inactivando vários tipos de microrganismos. (Jackson, 2008);
- A fracção combinada corresponde à quantidade de  $\text{SO}_2$  que está associado aos compostos do vinho. Em relação à fracção livre, não tem tanto peso nas propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Pode-se associar a: açúcares, etanal, antocianinas, etc.

Após a adição, o  $\text{SO}_2$  combina-se com vários compostos do vinho (ou mosto) que, dependendo do seu grau de afinidade, pode ser uma reacção reversível ou irreversível (tabela 2) e, são as reacções reversíveis, que garantem a libertação gradual do  $\text{SO}_2$  para o vinho à medida que a fracção livre diminui naturalmente.

**Tabela 2:** Taxa de combinação do  $\text{SO}_2$  com substâncias variadas que compõem os vinhos e mostos (Cardoso, 2007). Quanto maior a taxa maior o menor o grau de dissociação.

Substância	Taxa (%)
Etanal	> 99
Antocianinas	93-95
Ácidos cetónicos	61-72
Produtos da oxidação dos açúcares	36-72
Ácidos urónicos	2-4
Açúcares	0-2

Com o tempo, este composto tende a decrescer o que nos vinhos engarrafados significa uma progressiva diminuição do poder antioxidante.

### 1.3.2. A Microbiologia do Vinho e Alterações Químicas Durante as Fermentações

Durante a produção de um vinho, todas etapas são importantes para o desenvolvimento das características finais do produto. Contudo, as fases determinantes e de maior peso na qualidade físico-química e sensorial do vinho são as fermentações. Como se trata de duas fases que envolvem o recurso a microrganismos (leveduras e bactérias lácticas), o controlo e vigilância destes processos é então essencial para a obtenção de um vinho de grande qualidade bem como, para a identificação e correcção atempada de problemas associados principalmente à contaminação do mosto e consequente produção de compostos indesejáveis.

### 1.3.2.1. Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é a primeira fermentação que ocorre nos vinhos e caracteriza-se pela produção de etanol e outros subprodutos (como por exemplo uma grande variedade de compostos voláteis e CO<sub>2</sub>) a partir da degradação anaeróbia da glucose e da frutose das uvas por acção de leveduras (Zamora, 2009).

A presença de microrganismos nas uvas é um fenómeno natural e o número e a variedade de espécies existentes depende de factores geográficos, climatéricos, da aplicação de produtos fitossanitários e do estado do fruto. Logo após a vindima, há um aumento da flora microbiana justificado pelo contacto com os equipamentos (apanha, transporte e maceração) que vão acumulando microrganismos ao longo do tempo, muitas vezes originários de campanhas anteriores. (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006).

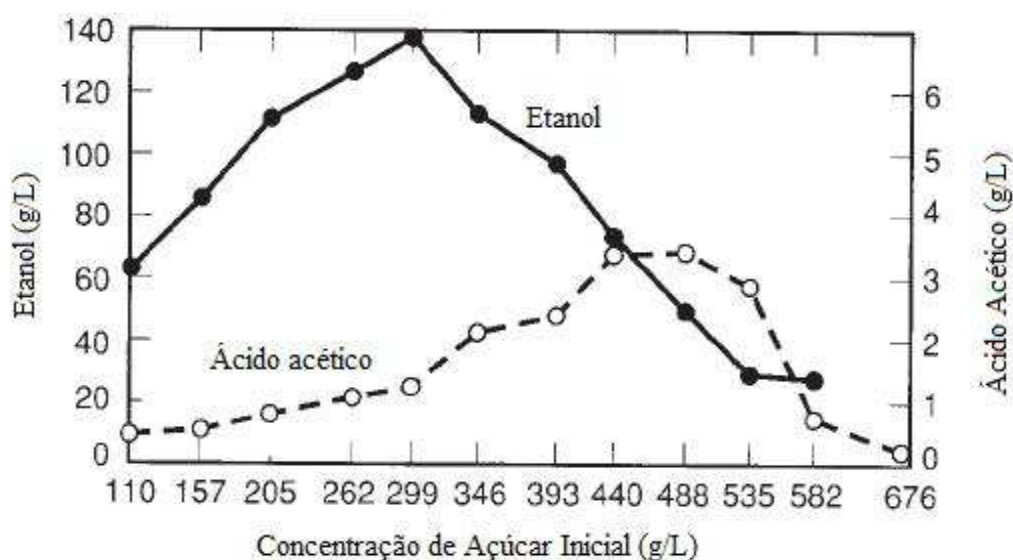
A partir desta fase, a fermentação pode ocorrer de duas formas: forçada ou espontânea. Na fermentação forçada, depois de decorrida a maceração, é adicionado SO<sub>2</sub> ao mosto que minimiza a quantidade e variedade de espécies microbianas e inocula-se o meio com uma levedura de características e comportamento conhecido, o que permite reduzir as variações organolépticas (através dos compostos formados) entre lotes do mesmo vinho e facilita o controlo físico-químico do processo. O processo espontâneo aproveita a flora natural das uvas para iniciar a fermentação o que pode ser benéfico para o vinho tornando-o organolepticamente mais complexo mas também pode ocorrer o inverso e o vinho ficar impróprio para o consumo. O que estes dois processos têm em comum é o facto de que a levedura responsável pela fermentação do mosto é a mesma – *Saccharomyces cerevisiae*.

A *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura que se encontra naturalmente nas uvas mas em quantidades muito pequenas mas desenvolve-se muito bem nos mostos de vinho. Enquanto na fermentação forçada a sua aplicação aumenta o número de células inicial e conseqüentemente acelera o processo, na fermentação espontânea a quantidade de leveduras é mais pequena o que torna o processo mais lento porque a levedura tem de se multiplicar (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006). Este organismo adapta-se facilmente ao meio que o mosto proporciona e, ao contrário das restantes espécies de leveduras, consegue persistir mesmo quando as concentrações de açúcares são muito reduzidas. Assim, pode-se concluir que as razões pelas quais se usa esta levedura na fermentação forçada são as mesmas que levam à sua predominância no mosto na fermentação espontânea (Jackson, 2008):

- Resistência a elevadas concentrações de açúcares e capacidade de fermentar a quase totalidade dos açúcares que compõem o mosto (as quantidades de glucose, frutose e açúcares residuais que ficam no mosto após a fermentação são muito pequenas não tendo qualquer efeito sensorial);

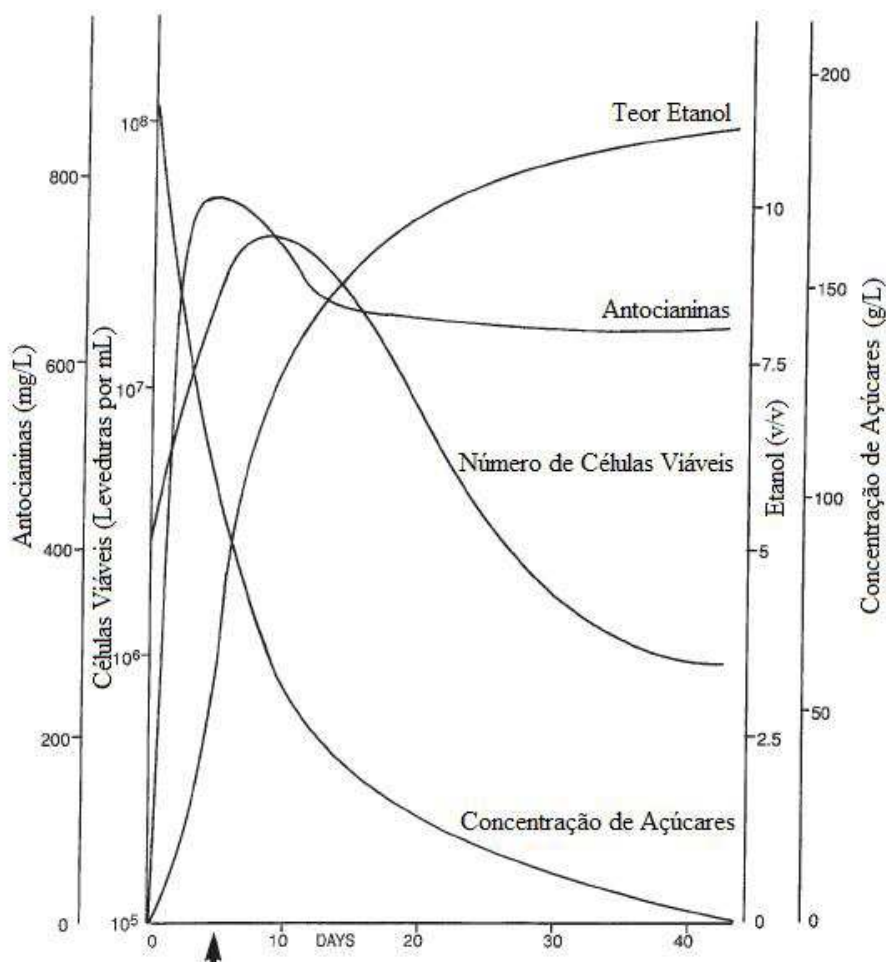
- Resistência a elevadas concentrações de SO<sub>2</sub>;
- Resistência a baixos valores de pH;
- Resistência a elevados teores de etanol e pode produzir etanol até 17% Vol..

Existem outros factores que, associados à espécie e estirpe das leveduras usadas influenciam as características finais do vinho, como a composição e as condições do meio. A presença de oxigénio também influencia a fermentação alcoólica que, quando ocorre com arejamento controlado, como é o caso dos vinhos tintos da ACP (nos vinhos brancos há o risco de oxidação), promove uma fermentação mais rápida e mais eficaz, porque o número de células a fermentar é muito maior e a quantidade de açúcares que permanecem no mosto após o processo é muito menor podendo-se atingir teores alcoólicos mais elevados (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006). A figura 8 exemplifica como a concentração inicial de açúcares pode afectar a produção de etanol e acidez volátil do mosto (Jackson, 2008; Zamora, 2009).



**Figura 8:** Produção de etanol e ácido acético em função da concentração inicial de açúcares no mosto de uva (Adaptado de Jackson, 2008).

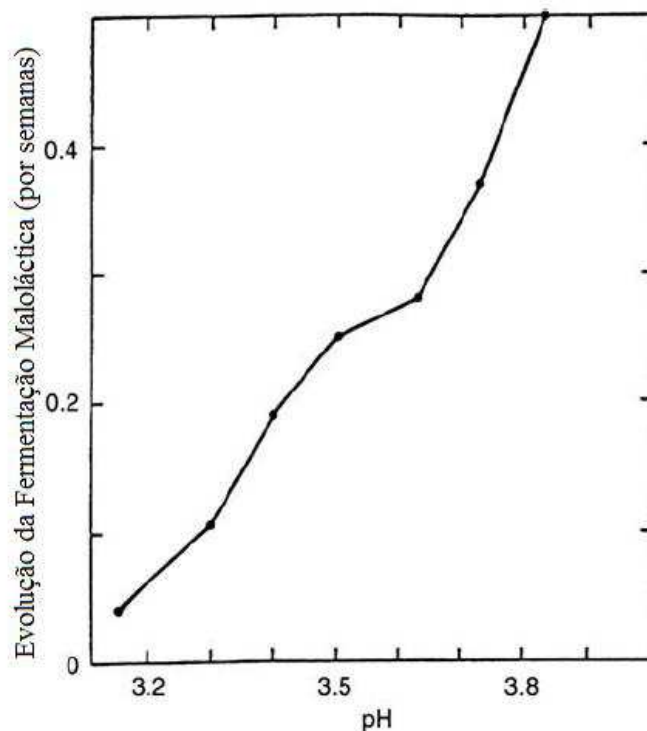
Após a inoculação do mosto, a *Saccharomyces cerevisiae* metaboliza os açúcares das uvas produzindo elevados teores de etanol (normalmente não excede os 15% Vol.) e outros compostos como o ácido acético, CO<sub>2</sub>, álcoois superiores, ácido láctico, ácido succínico (que baixa o pH do meio), diacetil entre outros e permite também a extracção de antocianinas. Todos estes compostos intervêm para as modificações físico-químicas do meio o que, a juntar ao baixo teor de açúcares resultante, provoca uma diminuição do número de células viáveis e minimiza o risco de posteriores contaminações. A figura 9 resume algumas estas alterações quer nos compostos formados quer na flora microbiana (Jackson, 2008).



**Figura 9:** Gráfico de evolução dos teores de açúcares, antocianinas e etanol no mosto durante a fermentação e evolução do número de leveduras (Adaptado de Jackson, 2008).

### 1.3.2.2. Fermentação Maloláctica

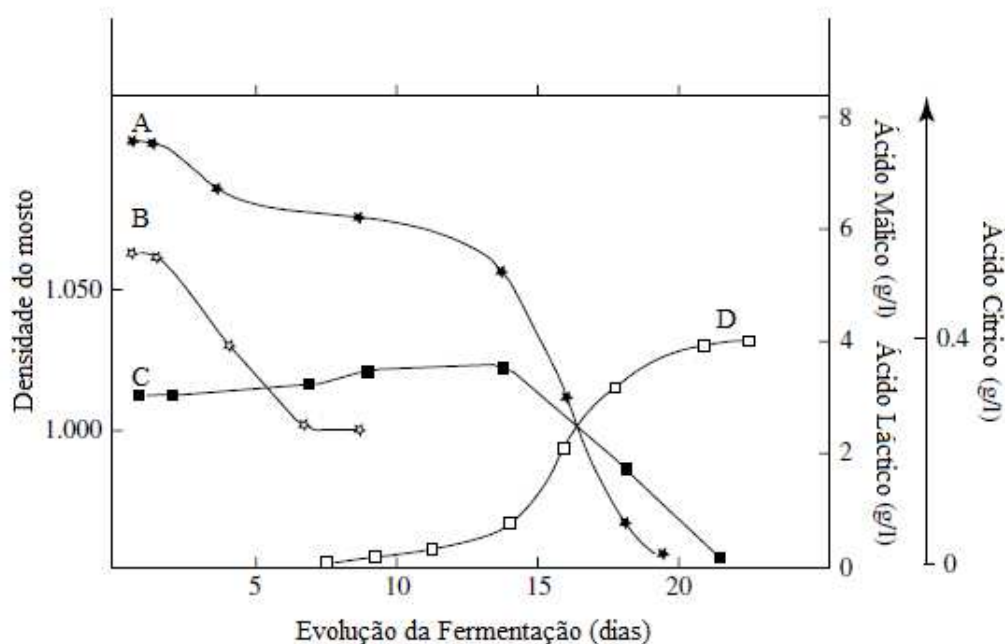
A FML é um procedimento de vinificação comum em vinhos tintos que ocorre logo após ou mesmo durante a fermentação alcoólica, no entanto não é uma prática obrigatória. Este processo tem como objectivos a diminuição da acidez do vinho (Figura 10) e alteração do seu sabor através da transformação do ácido málico (de gosto mais forte e pronunciado) em ácido láctico (ácido mais suave) por bactérias lácticas, nomeadamente a *Oenococcus oeni* (Constantini, *et. al.*, 2009).



**Figura 10:** Evolução do pH durante a FML (Adaptado de Jackson, 2008).

Tal como nas leveduras, as bactérias lácticas existem naturalmente nas uvas, nos mostos e nos vinhos mas só há uma multiplicação células significativa após o desenvolvimento das leveduras. As condições do mosto após a fermentação alcoólica são muito pouco favoráveis ao crescimento de bactérias lácticas (baixa concentração de açúcares, baixa temperatura, meio ácido, elevado teor de etanol), contudo existem alguns géneros e espécies associados à FML: a *Oenococcus oeni*, que consegue suportar as condições do meio e bactérias dos géneros *Lactobacillus* e *Pediococcus* que, por sucessão microbiana e pela alteração do meio, se vão desenvolvendo no mosto e contribuir para a FML (Constantini, *et. al.*, 2009).

Para o seu crescimento, a *Oenococcus oeni*, utiliza os açúcares residuais e o ácido málico, produzindo ácido láctico e ácido acético e utiliza o ácido cítrico como substrato para produzir ácido acético e compostos carbonílicos. A partir destas reacções também se obtém CO<sub>2</sub> e etanol (Lonvaud-Funel, 1995). Na figura 11 está representada a evolução desses teores (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006).



**Figura 11:** Evolução de vários compostos e da densidade do mosto durante a FML. Legenda: A – ácido málico; B – densidade; C – ácido cítrico; D – ácido láctico (Adaptado de Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006)

Quando o ácido málico for totalmente consumido, a população de bactérias lácticas decresce e, com a posterior adição de  $\text{SO}_2$ , a população de células bacterianas viáveis é muito pequena. Se o processo for correctamente controlado o meio torna-se microbiologicamente estável pois o elevado teor de etanol e a baixa concentração de compostos utilizados como substratos energéticos não é favorável ao crescimento (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006).

Mas, quando não há controlo da FML, pode ocorrer uma redução acentuada da acidez e consequentemente uma diminuição da acidez total, aumento da acidez volátil com a produção de compostos aromáticos indesejáveis e o aumento do pH para valores acima de 3,5 favorecendo a contaminação do mosto por microrganismos (como por exemplo *Brettanomyces/Dekkera*<sup>4</sup>). Nestes casos, com um meio mais favorável ao crescimento microbiano, ou como forma de prevenção contra possíveis contaminações é imprescindível o uso de  $\text{SO}_2$  ou outro processo de conservação (como clarificação ou conservação a baixas temperaturas) (Navarre, 1997).

Tendo em conta estes aspectos, a microbiologia do vinho é um factor de qualidade muito importante quer seja pela sua contribuição para os parâmetros químicos e organolépticos quer pela importância do seu controlo como forma de conservação dos vinhos e identificação de contaminações. Mas, apesar das condições desfavoráveis e dos inúmeros tratamentos a que o vinho é submetido durante o processo de produção e engarrafamento, estes podem não ser suficientes para garantir a inocuidade. De referir

<sup>4</sup> *Brettanomyces/Dekkera* é um género de leveduras que se desenvolve em anaerobiose nos vinhos secos e não necessita de elevados teores de açúcares para o seu crescimento. Estão associadas à produção de compostos fenólicos voláteis indesejáveis no vinho (Cardoso, 2007).

que existem outras formas de contaminar o vinho que estão associadas à higiene das instalações e equipamentos, águas, funcionários bem como através de todos materiais que se usam em todo o processo (como rolhas, garrafas...).



## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Amostras

As amostras utilizadas neste trabalho foram recolhidas e analisadas na ACP entre 2011 e 2013 e os resultados registados desde a produção do lote até ao engarrafamento. As características organolépticas das amostras são (Adega Cooperativa de Palmela: HACCP, 2012):

- Amostra 1 – Vinho Branco Regional (VBR): cor – citrino; sabor - fresco e ligeiramente ácido; aroma - bastante intenso e característico da casta moscatel;
- Amostra 2 – Vinho Branco DOC (VB DOC): cor – citrino; sabor - ligeiramente ácido, bastante fresco e levemente floral; aroma - ligeiramente frutado;
- Amostra 3 – Vinho Tinto Regional (VTR): cor – rubi intenso; sabor – bastante encorpado bem encorpado de acidez e com sabor persistente na boca; aroma - frutos silvestres maduros e madeiras;
- Amostra 4 – Vinho Tinto DOC (VT DOC): cor – rubi intenso; sabor – corpo intenso, taninos finos, bastante persistente; aroma – frutos silvestres, frutos secos.

**Tabela 3:** Especificações de alguns parâmetros analíticos para o produto final engarrafado (Adaptado de Adega Cooperativa de Palmela: Especificações do produto final, 2010)

	Acidez volátil g/dm <sup>3</sup>	Acidez total g/ dm <sup>3</sup>	pH	SO <sub>2</sub> Livre mg/ dm <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> Total mg/ dm <sup>3</sup>	Etanol %/Vol.
VBR	≤ 0,9	4,5-6,5	3,1-3,5	40-80	≤ 210	11,0-13,5
VB DOC	≤ 0,9	4,5-6,5	3,1-3,5	40-80	≤ 210	11,0-13,5
VTR	≤ 0,9	4,0-6,0	3,3-3,8	25-60	≤160	≥ 13,0
VT DOC	≤ 0,9	4,0-6,5	3,4-3,8	25-60	≤160	≥ 13,0

### 2.2. Métodos de Determinação de Parâmetros Físicos e Químicos

#### 2.2.1. Acidez Volátil

Acidez volátil designa o conjunto de ácidos gordos da série acética presente nos vinhos quer sob a forma livre, quer combinados (OIV, 2012), sendo o principal o ácido acético, e facilmente removíveis por destilação. Os compostos voláteis que constituem este tipo de acidez podem ser obtidos na fermentação alcoólica produzindo um aumento 0,2-0,3g de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/dm<sup>3</sup> da acidez volátil total (0,244-

0,366g de ácido acético), na presença de oxigénio e durante a FML, podendo aumentar a acidez em 0,1-0,2g de  $H_2SO_4/dm^3$  (0,122-0,244 g de ácido acético) (Ribéreau-Gayon *et.al.*, 2006).

O Reg. (CE) n.º. 606/2009 estabelece as regras de execução das práticas de produtos vitivinícolas indica que o teor de acidez volátil não pode exceder os 18 mEq/dm<sup>3</sup> (1,08g de ácido acético/dm<sup>3</sup> de vinho) em mostos de uva parcialmente fermentados, vinhos brancos, rosados ou rosés e 20 mEq/dm<sup>3</sup> (1,2 g de ácido acético/dm<sup>3</sup> de vinho) no caso de vinhos tintos.

A acidez volátil pode ser expressa em mEq/dm<sup>3</sup>, g  $H_2SO_4/dm^3$  e gramas de ácido acético/dm<sup>3</sup> de vinho.

- **Materiais** – Equipamento para destilação segundo o método *Mathieu* (Figura 12), Proveta de 24 mL; Balão de fundo redondo; Bureta de 18 mL pipeta de 10 mL



**Figura 12:** Montagem do equipamento para o método *Mathieu* (Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação da acidez volátil pelo método *Mathieu*, 2002).

- **Método: Destilação pelo método *Mathieu*** (Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação da acidez volátil pelo método *Mathieu*, 2002) – Verifica-se que a torneira que conecta a bureta ao balão está fechada e que o circuito de refrigeração está aberto. Mede-se 10 mL da amostra e verte-se para o balão que é colocado no equipamento de destilação e deve ficar seguro de modo a não libertar gases. Enche-se a bureta com água destilada e acende-se o bico. Após destilar 4 mL do vinho junta-se 6 mL de água destilada e assim sucessivamente (12 mL e 18 mL de destilado) até serem destilados 24 mL de destilado. Este destilado é titulado com uma solução de hidróxido de sódio a 0,1 N com 3 gotas de fenolftaleína. O ponto de

equilíbrio encontra-se quando o destilado mantém uma cor rosa forte durante cerca de 1 minuto. Após a titulação, calcula-se a acidez volátil do vinho (Figura 13).

$$AV = \left[ \frac{(\text{SO}_2 \text{ Total} - \text{SO}_2 \text{ Livre})}{2} + (\text{SO}_2 \text{ Livre} \times 2,06) \right] - (V1 \times 0,66)$$

**Figura 13:** Equação para cálculo da acidez volátil (AV). Os resultados são apresentados em gramas de ácido acético/dm<sup>3</sup> de vinho, sendo V1 o volume gasto, em mL, de NaOH na titulação (Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação da acidez volátil pelo método Mathieu, 2002).

### 2.2.2. Acidez Total

Acidez total é a soma de todos os ácidos tituláveis a pH 7 excluindo o CO<sub>2</sub> (OIV, 2012). Também não está incluída qualquer fracção de SO<sub>2</sub>. Assim pode-se considerar a acidez total como um índice representativo da acidez de um vinho e é formada por todos os componentes com características ácidas, tituláveis a pH 7 por uma solução alcalina, independentemente da sua volatilidade.

Os valores de acidez total devem ser superiores a 3,5g/dm<sup>3</sup> expresso em gramas de ácido tartárico (Reg.(CE) n.º.491/2009).

- **Materiais** – Tina de vidro; Pipeta de 10 mL.
- **Método** (Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação da acidez total, 2002) – Mede-se 10 mL da amostra e verte-se para uma tina. Junta-se 3 gotas de azul de bromotinol quando a amostra é de vinho tinto e 10 gotas quando a amostra é de vinho branco, moscatel ou abafado. Titula-se a amostra com uma solução de hidróxido de sódio a 0,1 N até a amostra apresentar uma cor azulada/esverdeada. Após a titulação, calcula-se a acidez total do vinho (Figura 14)

$$AT = 0,75 \times V1$$

**Figura 14:** Equação para cálculo da acidez total (AT). Os resultados são apresentados em gramas de ácido tartárico/dm<sup>3</sup> de vinho, sendo V1 o volume em mL gasto de NaOH na titulação (Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação da acidez total, 2002).

### 2.2.3. pH

O pH, ou acidez real, é de muita importância para o enólogo pois dá informação rápida das condições de acidez dos mostos e dos vinhos. É também de muita importância nas condições de crescimento e desenvolvimento das leveduras e das bactérias o que pode condicionar a evolução das fermentações. Este índice é influenciado pelas bactérias lácticas que, ao transformarem o ácido málico em ácido

lático, aumentam o valor do pH e a produção de ácido acético por leveduras e bactérias permite a diminuição do pH.

- **Materiais** – Potenciómetro; Termómetro.
- **Método** (Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação do pH, 2002; OIV, 2012) – Calibrar o potenciómetro para a temperatura do vinho, mergulhar o electrólito na amostra. Medir o pH, quando o valor estabilizar.

#### 2.2.4. SO<sub>2</sub> Livre

Segundo o OIV, o SO<sub>2</sub> livre é “definido como o dióxido de enxofre presente no mosto e nos vinhos nas seguintes formas: H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> e HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>”. Este método não desconta os compostos interferentes como por exemplo as antocianinas.

- **Materiais** – Balão de *Erlenmeyer* de 500 mL; Pipeta de 50 mL.
- **Método** (Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação do sulfuroso livre, combinado e total, 2002) – Mede-se 50 mL de vinho e verte-se para um balão de *Erlenmeyer* de 500 mL. Junta-se à amostra 5 mL de ácido sulfúrico a 10% e 5 mL de cozimento de amido a 5%. Titula-se a amostra com uma solução de iodo a 0,05 N. Após a titulação, calcula-se o teor de SO<sub>2</sub> livre no vinho (Figura 15).

$$\text{SO}_2 \text{ Livre} = V1 \times 20$$

**Figura 15:** Equação para cálculo do teor de SO<sub>2</sub> Livre. Os resultados são apresentados em mg de SO<sub>2</sub> por L de vinho, sendo V1 o volume em mL de solução de Iodo (0,05N) gasto na titulação (Fonte: (Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação do sulfuroso livre, combinado e total, 2002)

#### 2.2.5. SO<sub>2</sub> Total

O SO<sub>2</sub> total é o conjunto de todas as formas, livres e combinadas, de dióxido de enxofre presentes no vinho. A legislação aponta para níveis máximos de SO<sub>2</sub> total (para vinhos com um teor de açúcar inferior a 5 mg/dm<sup>3</sup>, como é o caso das amostras utilizadas neste trabalho) inferiores a 150 mg/dm<sup>3</sup> para vinhos tintos ou inferiores a 200 mg/dm<sup>3</sup> para vinhos brancos e rosés (Reg. (CE) n.º. 606/2009).

- **Materiais** – Balão de Erlenmeyer de 500 mL; Pipeta de 50 mL.
- **Método** (Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação do sulfuroso livre, combinado e total, 2002) – Num balão de Erlenmeyer de 500 mL verte-se 25 mL de hidróxido

de potássio e 50 mL da amostra de vinho e espera-se 15 minutos. Após o término do tempo junta-se 10 mL de ácido sulfúrico a 10% e 5 mL de cozimento de amido a 5% e titula-se com uma solução de iodo a 0,1 N. Após a titulação, calcula-se o teor de SO<sub>2</sub> total do vinho (Figura 16).

$$\text{SO}_2 \text{ Total} = V1 \times 20$$

**Figura 16:** Equação para cálculo do teor de SO<sub>2</sub> Total. Os resultados são apresentados em mg de SO<sub>2</sub> por dm<sup>3</sup> de vinho, sendo V1 o volume em mL de solução de Iodo (0,05N) gasto na titulação (Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação do sulfuroso livre, combinado e total, 2002)

### 2.2.6. Teor Alcoólico

De acordo com a Portaria 985/82, designa-se por “teor alcoólico em volume (ou grau alcoólico volumétrico) de um vinho” o número de dm<sup>3</sup> de etanol contido em 100 dm<sup>3</sup> desse vinho, sendo estes dois volumes medidos à temperatura de 20°C” (Curvelo-Garcia, 1988).

Existem muitos métodos de quantificação do etanol. O método mais simples é através da utilização de um Ebuliómetro e baseia-se na quantificação da percentagem de etanol através da determinação da temperatura de ebulição do vinho, que é convertida através de um disco de determinação do grau alcoólico.

- **Materiais** - Ebuliómetro, termómetro, Disco de conversão (figura 17).



**Figura 17:** Equipamento para medição do grau alcoólico. A) Ebuliómetro, B) Disco para ebuliómetro (Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação do teor alcoólico por ebulliometria, 2002)

- **Método** (Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação do teor alcoólico por ebulliometria, 2002) - Após a limpeza e calibração do aparelho (com água), este deve ser limpo com a amostra de vinho que se irá utilizar na medição (elimina resíduos de água e químicos utilizados na limpeza e calibração do aparelho, reduzindo possíveis erros). De seguida verte-se o vinho para o ebuliómetro de modo a que o termómetro esteja submerso no vinho e espera-se que o vinho ferva. Após ferver, faz-se a leitura da temperatura de ebulição no termómetro e depois converte-se para percentagem de etanol.

### 2.2.7. Massa Volúmica

Segundo o OIV, e os métodos oficiais da CEE e de Portugal (Portaria 985/82), a massa volúmica de um vinho a 20°C ( $\rho_{20}$ ) é calculada pelo quociente entre a massa no vazio de um certo volume de vinho à temperatura de 20°C e esse volume expressa em g/cm<sup>3</sup>. A determinação da massa volúmica apresenta algumas vantagens principalmente quanto à concentração de açúcares existentes nos mostos (Curvelo-Garcia, 1988).

- **Materiais** – Proveta de 250 cm<sup>3</sup>; Termómetro e Aerómetro.
- **Método: Aerometria** (Adega Cooperativa de Palmela: Procedimento de determinação da densidade, 2002; OIV, 2012) – Verte-se 250 mL de vinho, à temperatura ambiente, para a proveta e introduz-se o aerómetro. Após a leitura da massa volúmica ( $\rho_T$ ) faz-se a leitura da temperatura e registam-se os valores. Depois, com o auxílio de uma tabela (Anexo III) de correcção da temperatura e da fórmula converte-se a massa volúmica à temperatura registada em massa volúmica a 20°C (Figura 18).

$$\rho_{20} = \rho_T \pm \frac{C}{1000}$$

**Figura 18:** Conversão da  $\rho_T$  em  $\rho_{20}$ . Sendo  $\rho_{20}$  a massa volúmica a 20°C;  $\rho_T$  a massa volumica obtida na análise á temperatura ambiente e C o factor conversor (Anexo 3). Usa-se (+) quando a T é superior a 20°C e (-) quando inferior (Fonte: OIV, 2012).

## 2.3. Análises Microbiológicas

A adega, referente às análises microbiológicas, segue um plano de recolha de amostras tanto de vinhos engarrafados e por engarrafar como no ar ambiente e nos materiais usados no engarrafamento (tabela 4). Esta recolha é semanal (ou diária no caso dos vinhos engarrafados) e permite a avaliação tanto da eficácia dos tratamentos como do manuseamento e limpeza dos equipamentos, depósitos e instalações.

**Tabela 4:** Amostras para análise microbiológica (Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Método de colheita de amostras para controlo microbiológico, 2008)

<b>Tipo de amostra</b>	<b>Locais e materiais de recolha</b>	<b>Modo de recolha</b>
<b>Amostras de vinho</b>	Engarrafado e rolhado/capsulado 2x por dia no arranque da linha Antes de depois de ser filtrado (ultima filtração antes do engarrafamento)	Em garrafa esterilizada ou <i>Bag-in-box</i>  Frasco vazio esterilizado
<b>Amostras de matérias subsidiárias</b>	Rolhas, cápsulas e caricas  Garrafas e sacos <i>Bag-In-Box</i>  Água de enxaguamento	Em frascos com 100 mL de água esterilizada Fechados com papel de alumínio, sacos fechados Frasco vazio esterilizado
<b>Amostras da higienização das máquinas</b>	Bicos de enchimento e enxaguamento Capsotes rolhadores e capsuladores Saída dos filtros e entrada nas enchedoras	Esfregãos acondicionados em tubos de ensaio esterilizados com 2/3 do seu volume com água esterilizada

- **Materiais:** para esterilização do material durante a análise: bico de busen, placa de aquecimento, panela de aço inoxidável, álcool etílico; para as placas: placas de Petri esterilizadas, membranas esterilizadas, cartões absorventes esterilizados, meio de cultura *WL Nutrient Broth* esterilizado, pipetas de 5 mL esterilizadas; para a filtração: rampa de filtração de 3 vias, conjunto de filtração (funis de 100 mL e porta membranas), molas de fixação, kitassato, bomba de vácuo; outros materiais e equipamentos: pinça, tenaz, estufa de incubação e lupa.
- **Método** (Adega Cooperativa de Palmela: Método de preparação de amostras para controlo microbiológico, 2008; Adega Cooperativa de Palmela: Método de determinação de microrganismos totais – técnica de filtração por membrana, 2008): O método usado nas análises microbiológicas, seja qual for o tipo de amostra, é o de determinação dos microrganismos totais através da filtração por membrana (excepto no controlo do ar ambiente). Para todas as amostras, excepto do ar ambiente, o método de análise segue os seguintes passos:
  - a) Preparação das placas de Petri: Colocar em cada placa 1 cartão absorvente e 5 mL de meio de cultura. Este processo deve ser rápido e perto da chama para evitar contaminações. Identificar as placas;
  - b) Montagem do equipamento: com os funis e porta membranas a esterilizar em água a ferver, ligar a rampa ao kitassato e este à bomba de vácuo. Colocar os porta-membranas nas vias da rampa e, com uma pinça esterilizada, colocar as membranas esterilizadas e depois os funis. Colocar as molas de fixação para aderir os funis à rampa de filtração;

- c) Filtração: Agitar as amostras e vertê-las para o funil nos volumes: 100 mL de vinho branco e amostras com água (rolhas, garrafas, esfregaços e águas) e 50 mL de vinho tinto. Fazer uma filtração com água esterilizada para placa de testemunha. Ligar a bomba e esperar que filtre. Retirar as membranas e coloca-las nas placas de Petri.
- d) Incubação e leitura: incubar as placas a 32°C em posição invertida. Após 48h fazer a contagem, com recurso à lupa, de leveduras, bactérias e fungos.

Os resultados são expressos em UFC por 100 mL (multiplicar, no caso dos vinhos tintos, o resultado por 2) ou em UFC na amostra/local, no caso das matérias subsidiárias e esfregaços. Para que o produto seja considerado aceite, o número de microrganismos total, não deve ultrapassar: 100 UFC (vinhos brancos, rosés e vinhos generosos e licorosos), 1000 UFC (vinhos tintos) e 500 UFC (restantes amostras).

Este método permite a contagem total dos microrganismos apenas diferenciando-os entre leveduras, fungos e bactérias, não permite a diferenciação em espécie. É de ter em atenção que, quer na recolha quer na análise deve-se ter muito cuidado com contaminações cruzadas devido ao ambiente ou ao manuseamento durante a filtração. Assim, o operador deve frequentemente desinfetar ou esterilizar tudo que esteja em contacto com as amostras.

## **2.4. Prova Sensorial**

A análise sensorial dos vinhos é uma etapa muito importante como ferramenta no estudo e realização de lotes e também como complemento às análises físicas e químicas o que mostra que a importância do enólogo é mais do que a produção de vinho, é também a de garantir que o produto final é de organolepticamente apelativo e que o produto está em condições de ser consumido.

Existem vários tipos de prova consoante o provador seja um profissional no ramo com experiência em prova de vinhos ou um consumidor que se gere apenas pelo gostar ou não do vinho. Enquanto a variação das respostas no primeiro caso é muito pequena pois é um painel treinado, no segundo caso as respostas variam consoante o consumidor. Em relação aos painéis não treinados, existem dois tipos de teste: os diferenciais e os de preferência. Nos testes diferenciais pretende-se que os provadores identifiquem apenas uma diferença entre as amostras a provar e nos testes de preferência, tal como o nome indica, deve exprimir qual a sua preferência entre as amostras que provou (Cardoso, 2007).

Neste trabalho, foi usado um painel de provadores não treinado (constituído por 50 inquiridos) num teste de preferência entre os vinhos brancos e entre os vinhos tintos. O inquérito consistia em duas

partes, uma de informação geral sobre a compra de vinhos e a segunda baseada na prova dos vinhos. Os vinhos foram provados na seguinte ordem: VBR, VB DOC, VTR e VT DOC sendo que os vinhos brancos estavam frescos e os vinhos tintos estavam à temperatura ambiente durante a prova. Foi pedido também que tentassem caracterizar de modo a comparar com a avaliação do enólogo da ACP e avaliar os vinhos (numa escala de 1 a 5, sendo a classificação de 5 para as características mais apreciadas) em termos de sabor, aroma, cor e aspecto (rotulagem/imagem).

## **2.5. Análise Estatística**

A análise estatística foi realizada a todos os testes analíticos com recurso ao *software Excel 2010 da Microsoft®* de modo a fazer uma análise de variância (ANOVA) com fator único de acordo com os dados em causa. A análise de variância foi complementada com o teste de Tukey de modo a avaliar a existência de diferenças significativas entre as amostras. Foi utilizado um nível de significância de 5% para todos os testes. Na análise dos resultados foram realizadas também regressões com um nível de significância de 5% e correlações de Pearson através do *software Excel 2010 da Microsoft®*.

Na análise de dados multivariados utilizou-se o *software Statistica®* (versão 7 - Copyright StatSoft, INC Tulsa, OK, USA) para efetuar a Análise de Componentes Principais e a Classificação Hierárquica.



### 3. Resultados e Discussão

Os resultados foram recolhidos após a realização do lote e até ao engarrafamento sendo que cada amostra corresponde a uma data entre estas duas fases do processo. As datas não são coincidentes entre os vinhos, o que implica que as condições ambientais (temperatura, humidade ...) na data da análise sejam também diferentes o que pode afectar a exactidão do resultado.

Os resultados apresentados das amostras de 1, 2, 3 e 4 são os resultados médios de quatro lotes diferentes do mesmo vinho, sendo que foram utilizados dados de doze colheitas desde o loteamento até ao engarrafamento.

#### 3.1. Parâmetros Físicos e Químicos

A produção de ácido acético é comum durante o processo de vinificação. Quando em quantidades relativamente baixas (entre 100 a 300 mg de ácido acético/dm<sup>3</sup> de vinho), o seu aparecimento, num meio com uma concentração média de açúcares inferior a 220 mg/dm<sup>3</sup>, está associado ao metabolismo das leveduras e bactérias durante as fermentações (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006).

Visto que os valores estão dentro dos limites legais exigidos (inferior a 1,08 g/dm<sup>3</sup> para vinhos brancos e 1,2 g/dm<sup>3</sup> para vinhos tintos, segundo o Reg. 606/2009) e não sofrem grandes variações pode-se excluir a hipótese de contaminação ou quebra de açúcares residuais.

A figura 19 e a tabela 5 mostram que acidez volátil dos vinhos brancos foi mais baixa do que a dos vinhos tintos o que significa que quantitativamente, os vinhos tintos têm maior teor de ácido acético.

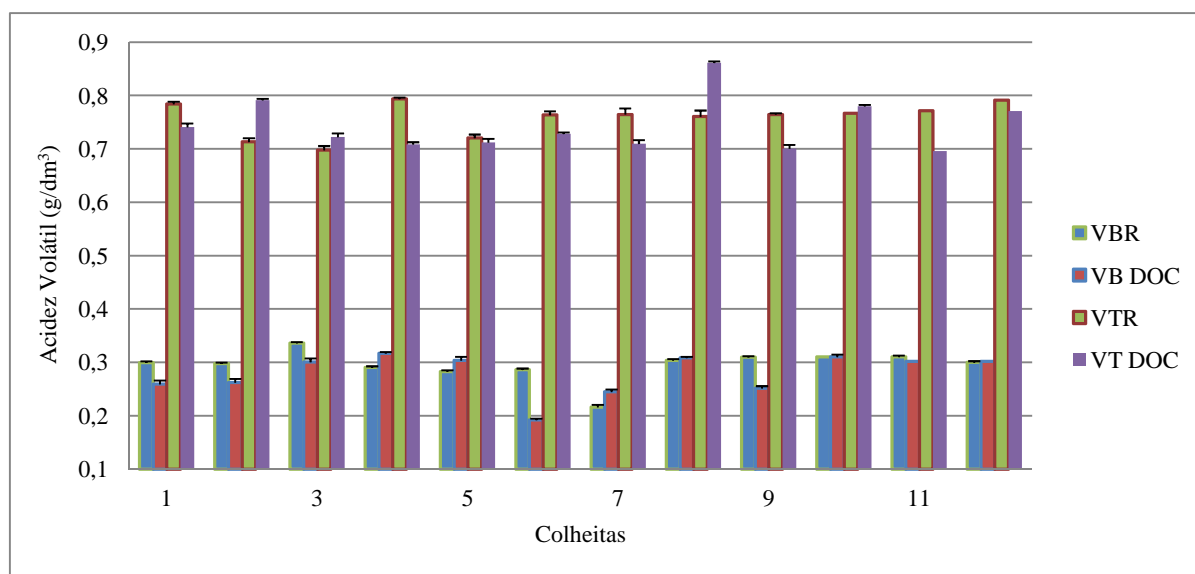
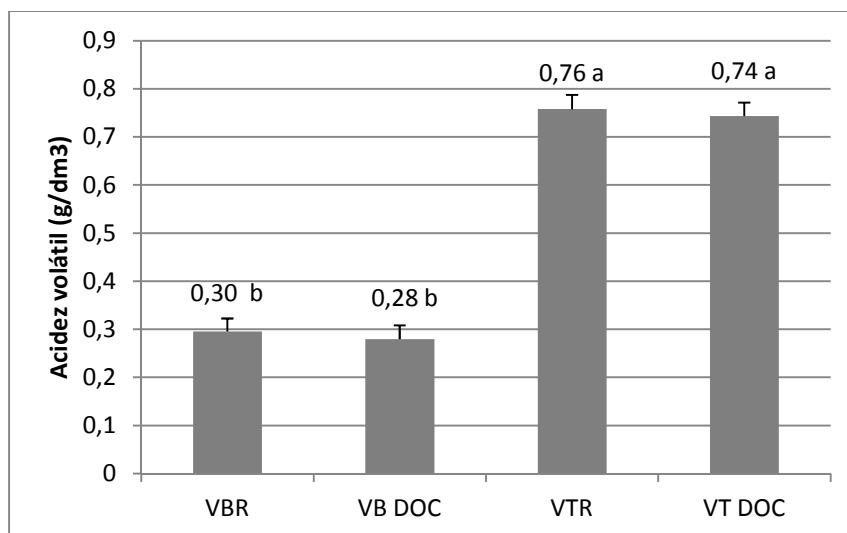


Figura 19: Evolução da acidez volátil.

**Tabela 5:** Valores médios das análises à acidez volátil dos vinhos. Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas entre as colheitas de cada vinho, para um grau de confiança de 95%.

	Colheitas (g/dm <sup>3</sup> )											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>VBR</b>	0,25 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,29 <sup>b</sup>	0,24 <sup>a</sup>	0,22 <sup>c</sup>	0,24 <sup>a</sup>	0,16 <sup>c</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,24 <sup>a</sup>
<b>VB DOC</b>	0,22 <sup>b</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,13 <sup>d</sup>	0,19 <sup>c</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>	0,25 <sup>a</sup>
<b>VTR</b>	0,78 <sup>a</sup>	0,71 <sup>b</sup>	0,70 <sup>b</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,72 <sup>b</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>
<b>VT DOC</b>	0,74 <sup>c</sup>	0,79 <sup>b</sup>	0,72 <sup>c</sup>	0,71 <sup>c</sup>	0,71 <sup>c</sup>	0,73 <sup>c</sup>	0,71 <sup>c</sup>	0,86 <sup>a</sup>	0,70 <sup>c</sup>	0,78 <sup>b</sup>	0,70 <sup>d</sup>	0,77 <sup>b</sup>

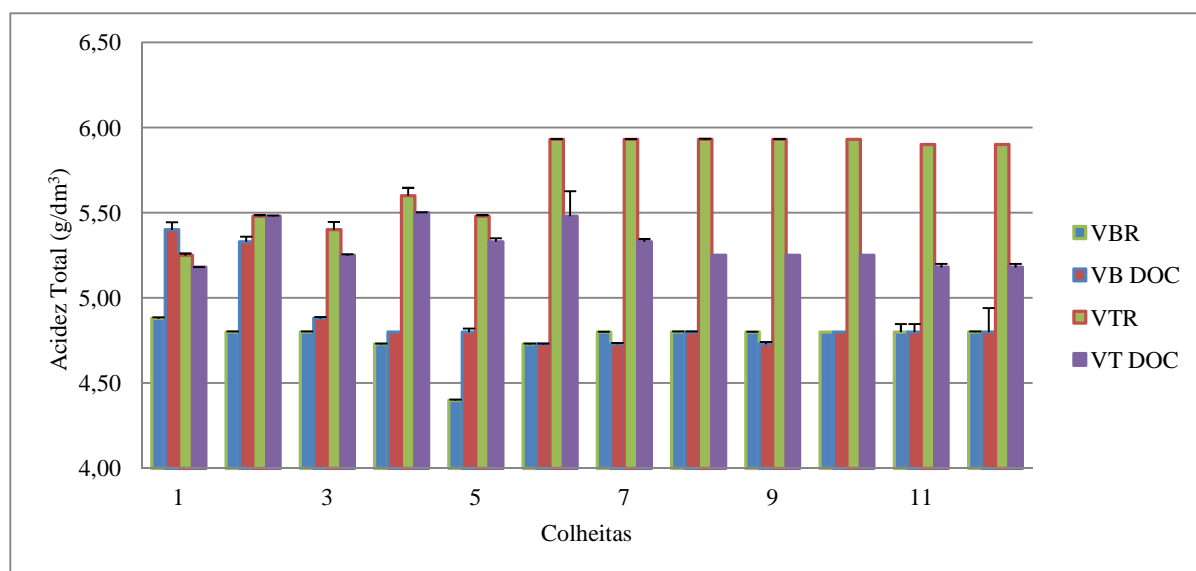
Verificou-se (Figura 20) que não existem diferenças significativas entre vinhos brancos e entre vinhos tintos no entanto, como o processo de vinificação é semelhante para todos os vinhos brancos e para todos os vinhos tintos, as pequenas variações que existem podem ser atribuídas a outros factores, como por exemplo: a casta, composição do mosto e as condições de fermentação (Moreira *et. al.*, 2011). O mesmo não se pode dizer entre vinhos brancos e tintos, onde a diferença é significativa.



**Figura 20:** Análise da acidez volátil pelo teste ANOVA. As amostras com a mesma letra indicam ausência de diferenças significativas ( $P \geq 95\%$ ).

Esta diferença, entre vinhos brancos e vinhos tintos, pode ser explicada pelo facto de o vinho tinto ser submetido a FML que afecta a composição volátil e o seu teor no vinho (Moreira *et. al.*, 2011). Segundo o estudo realizado por Silva, *et. al.* (2003), sobre a evolução da acidez volátil em vinhos inoculados com duas estirpes diferentes de *Saccharomyces cerevisiae*, observou-se que, após a FML, houve um aumento significativo da acidez volátil nos dois vinhos analisados o que pode ser explicado pela presença de bactérias lácticas no mosto (provenientes da FML) e que, quanto maior o teor de açúcares residuais, maior o teor de ácido acético. A quantidade de ácido acético produzido pelas bactérias lácticas, nomeadamente a *Oenococcus oeni*, é relativamente pequena desde que não fermentem grandes quantidades de açúcares residuais (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006). O facto de o vinho tinto ser arejado durante a fermentação alcoólica também pode ter influenciado esta diferença.

A FML também influencia o teor de acidez total (valores expressos em gramas de ácido tartárico). Como já foi referido, a acidez total é em grande parte constituída por ácido tartárico e ácido málico que, após a FML é convertido em ácido láctico (que é um ácido mais fraco) baixando assim o valor da acidez total (Silva, *et. al.*, 2003). A figura 21 e a tabela 6 mostram que os vinhos tintos analisados apresentam valores superiores aos vinhos brancos, o que significa que, quantitativamente, os vinhos tintos têm um teor mais elevados de ácido tartárico. Segundo Ribéreau-Gayon *et.al.* (2006), a acidez volátil contribui muito pouco para a acidez total ao contrário da acidez fixa (acidez fixa é o conjunto de todos os ácido orgânicos não voláteis).

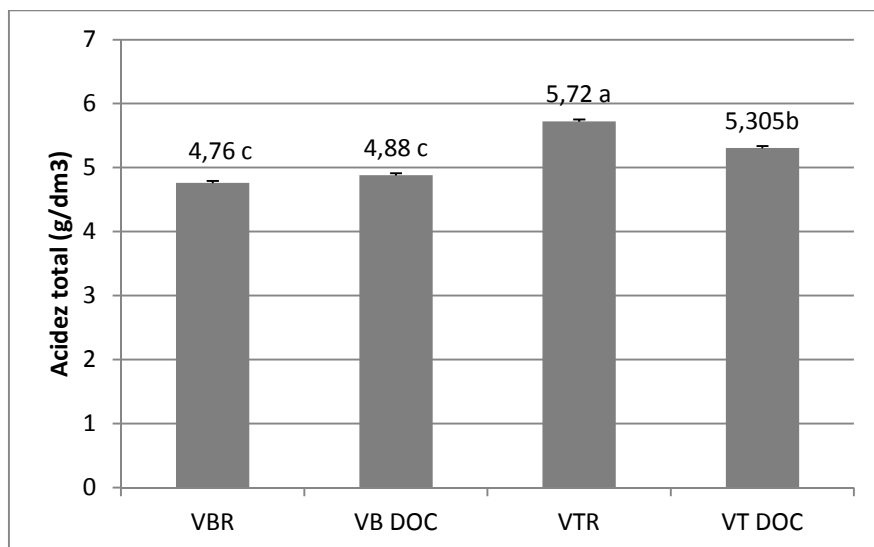


**Figura 21:** Evolução da acidez total.

**Tabela 6:** Valores médios das análises à acidez total dos vinhos. Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas entre as análises de cada vinho, para um grau de confiança de 95%.

	Colheitas (g/dm <sup>3</sup> )											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>VBR</b>	4,88 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,73 <sup>b</sup>	4,40 <sup>c</sup>	4,73 <sup>b</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>
<b>VB DOC</b>	5,40 <sup>b</sup>	5,33 <sup>b</sup>	4,88 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,73 <sup>a</sup>	4,73 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,73 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>
<b>VTR</b>	5,25 <sup>d</sup>	5,48	5,40 <sup>c</sup>	5,60 <sup>b</sup>	5,48 <sup>b</sup>	5,93 <sup>a</sup>	5,93 <sup>a</sup>	5,93 <sup>a</sup>	5,93 <sup>a</sup>	5,93 <sup>a</sup>	5,90 <sup>a</sup>	5,90 <sup>a</sup>
<b>VT DOC</b>	5,18 <sup>b</sup>	5,48 <sup>a</sup>	5,25 <sup>b</sup>	5,50 <sup>a</sup>	5,33 <sup>b</sup>	5,48 <sup>a</sup>	5,33 <sup>b</sup>	5,25 <sup>b</sup>	5,25 <sup>b</sup>	5,25 <sup>b</sup>	5,18 <sup>b</sup>	5,18 <sup>b</sup>

Pode-se também afirmar que, de acordo com o teste ANOVA (probabilidade de 95%), para o parâmetro da acidez total os vinhos brancos são semelhantes entre si e que os vinhos tintos são significativamente diferentes entre si (Figura 22).

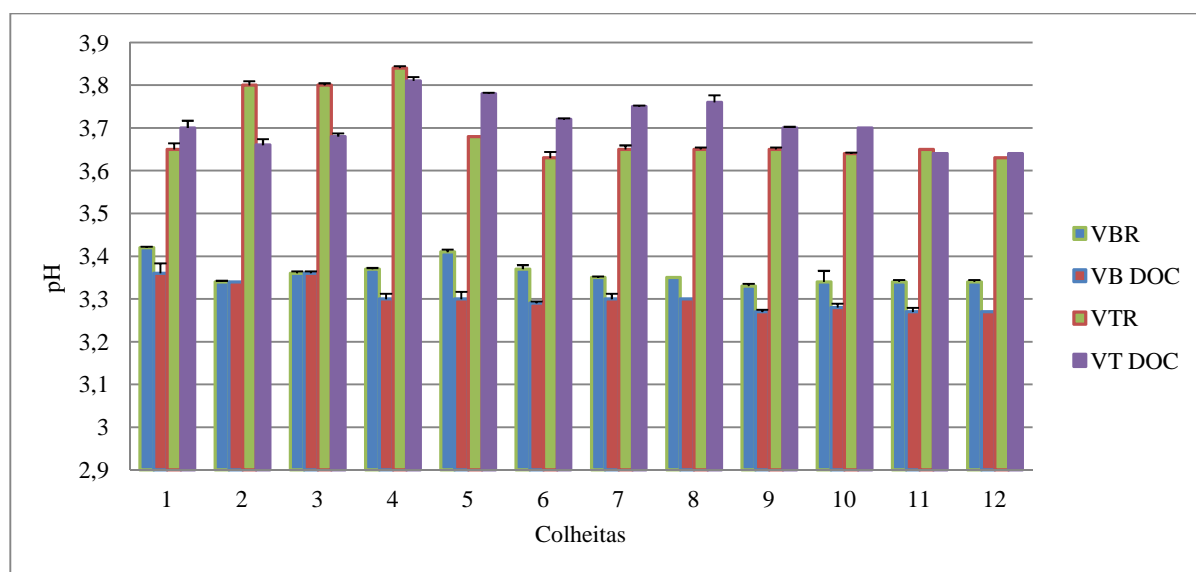


**Figura 22:** Análise da acidez total pelo teste ANOVA. As amostras com a mesma letra indicam ausência de diferenças significativas ( $P \geq 95\%$ ).

Segundo Ribereau-Gayon *et al.* (2006) e Jackson (2008), a acidez total de um vinho deve estar entre os 5,5 g/dm<sup>3</sup> e os 8,5 g/dm<sup>3</sup> em que os vinhos brancos deveriam estar mais próximos do limite superior e os tintos do limite inferior, no entanto, nestas amostras, este facto não se verifica. Isto pode ser explicado por factores inerentes à cultura da vinha, à casta, solo e adubações que influenciaram a quantidade de ácidos orgânicos existentes nos vinhos brancos.

Em resumo, quando é analisada a acidez fixa (que contabiliza a quantidade de ácidos orgânicos e matematicamente obtida pela diferença entre a acidez total e a acidez volátil) conclui-se que os vinhos tintos têm um maior teor de ácidos orgânicos do que os vinhos brancos.

Os valores de pH também estão associados ao teor em ácidos orgânicos (acidez total). Para os vinhos analisados, o pH é superior em vinhos tintos do que nos vinhos brancos (Figura 23; Tabela 7).



**Figura 23:** Evolução do pH no vinho.

**Tabela 7:** Valores médios das análises de pH. Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas entre as colheitas de cada vinho, para um grau de confiança de 95%.

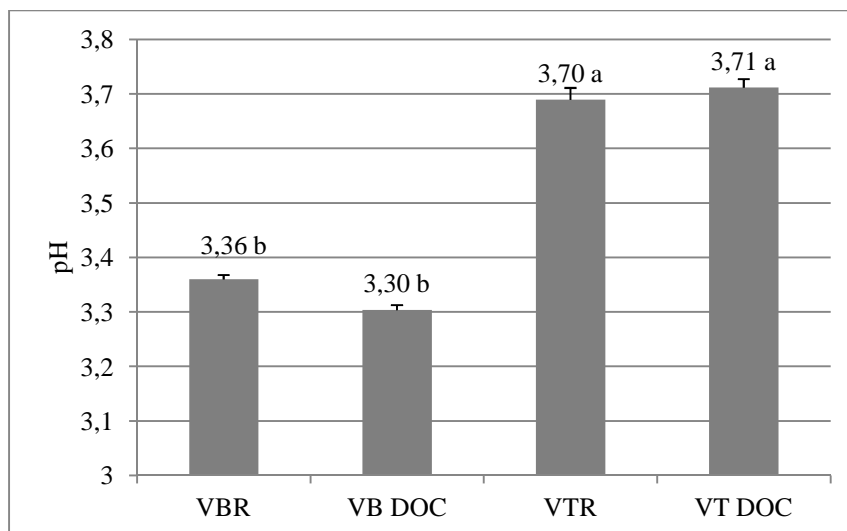
	Colheitas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>VBR</b>	3,42 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>	3,36 <sup>a</sup>	3,37 <sup>a</sup>	3,41 <sup>a</sup>	3,37 <sup>a</sup>	3,35 <sup>a</sup>	3,35 <sup>a</sup>	3,33 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>
<b>VB DOC</b>	3,36 <sup>a</sup>	3,34 <sup>a</sup>	3,36 <sup>a</sup>	3,30 <sup>b</sup>	3,30 <sup>b</sup>	3,29 <sup>b</sup>	3,30 <sup>b</sup>	3,30 <sup>b</sup>	3,27 <sup>b</sup>	3,28 <sup>b</sup>	3,27 <sup>b</sup>	3,27 <sup>b</sup>
<b>VTR</b>	3,65 <sup>b</sup>	3,80 <sup>a</sup>	3,80 <sup>a</sup>	3,84 <sup>a</sup>	3,68 <sup>b</sup>	3,63 <sup>c</sup>	3,63 <sup>c</sup>	3,65 <sup>b</sup>	3,65 <sup>b</sup>	3,64 <sup>b</sup>	3,65 <sup>b</sup>	3,63 <sup>c</sup>
<b>VT DOC</b>	3,70 <sup>c</sup>	3,66 <sup>c</sup>	3,68 <sup>c</sup>	3,81 <sup>a</sup>	3,78 <sup>a</sup>	3,72 <sup>b</sup>	3,75 <sup>b</sup>	3,76 <sup>b</sup>	3,70 <sup>c</sup>	3,70 <sup>c</sup>	3,64 <sup>c</sup>	3,64 <sup>c</sup>

Teoricamente, quanto maior o teor de ácidos orgânicos menor o valor de pH. Contudo, esta tendência não se verifica, embora os valores de pH estejam próximos dos valores da bibliografia: entre 3,1 e 3,4 para vinhos brancos e entre 3,3 e 3,6 (Ribéreau-Gayon *et. al.*, 2006), por oposição aos resultados da acidez total.

Então, de acordo com os resultados da acidez total, uma possível razão para os valores baixos de pH e acidez total, está na variedade de ácidos orgânicos que influenciam o pH. Se mesmo com uma quantidade baixa de ácidos orgânicos estes forem ácidos fortes, o pH mantém-se baixo. Como é o caso dos vinhos brancos que, logo no início sofrem uma adição de ácido tartárico (ácido orgânico forte) para diminuir o pH. Este ácido afecta mais o pH do que o ácido málico que, em contrapartida afecta mais a acidez total (Ribéreau-Gayoun *et. al.*, 2006). Assim, apesar do vinho tinto ter maior acidez total que o vinho branco, pode existir nos vinhos brancos uma quantidade superior de ácidos orgânicos fortes.

Em relação aos valores dos vinhos tintos serem mais elevados do que nos vinhos brancos, estes devem-se à diminuição da acidez durante a FML por conversão do ácido málico em ácido láctico (um ácido mais forte para um ácido mais fraco).

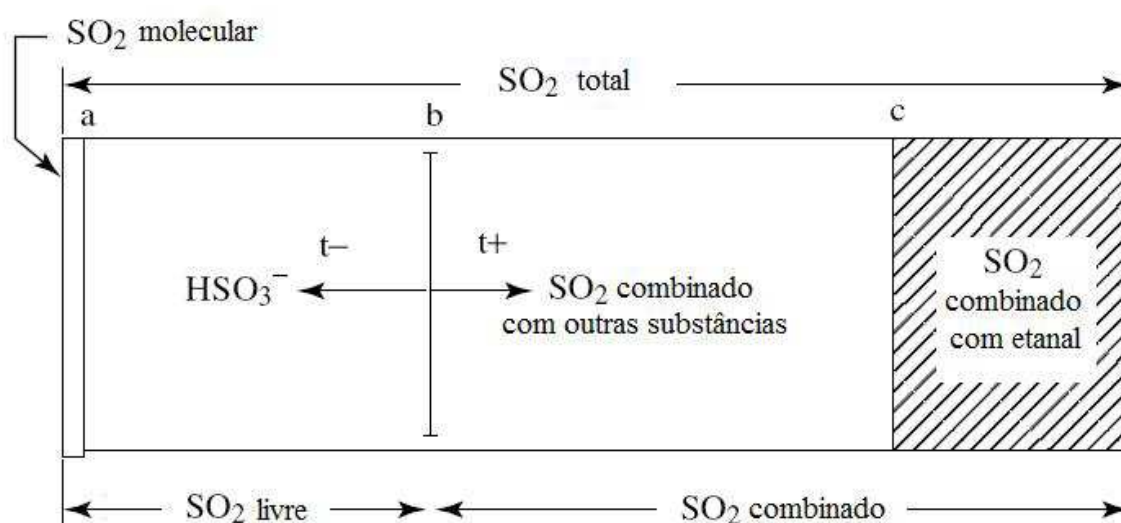
O teste ANOVA também comprova (com uma probabilidade de 95%) a diferença significativa que existe entre os vinhos brancos e os vinhos tintos (Figura 24).



**Figura 24:** Análise do pH pelo teste ANOVA. As amostras com a mesma letra indicam ausência de diferenças significativas ( $P \geq 95\%$ ).

Outro parâmetro que é influenciado pelo pH é o teor em  $\text{SO}_2$ . Das duas fracções de  $\text{SO}_2$  nos vinhos a fracção livre, nomeadamente através da sua forma molecular, é a mais importante pois é a que garante a acção antisséptica do  $\text{SO}_2$ . Esta forma é condicionada pelo pH o que significa que para o mesmo valor de  $\text{SO}_2$  livre a quantidade da forma molecular aumenta com a diminuição do pH. Este aspecto permite a redução da quantidade de  $\text{SO}_2$  aplicada sem que tenha consequências negativas para a conservação do vinho. Contudo, deve haver um equilíbrio entre estes parâmetros: pH muito baixo é desagradável organolepticamente e  $\text{SO}_2$  muito elevado é tóxico para humanos além de que, durante o processo de produção, dificulta a acção dos microrganismos.

A figura 25 descreve as interacções entre fracções e formas do  $\text{SO}_2$  nos vinhos e mostos.



**Figura 25:** Interação entre os diferentes componentes do  $\text{SO}_2$ . a é o limite entre a forma molecular e bissulfito, b o limite entre a fracção livre e a combinada (com outros compostos) e c o limite entre a fracção combinada com etanal e a fracção combinada com outros compostos (Adaptado de Ribéreau-Gayon, *et.al.*, 2006)

Tal como já foi referido, a proporção da forma activa está dependente do valor de pH. Em relação aos outros componentes, a quantidade de SO<sub>2</sub> que fica combinada com outros compostos depende da temperatura: quanto maior a temperatura maior é a fracção livre (forma bissulfito) e menor a fracção combinada, o que não afecta a fracção associada ao etanal (ligação muito estável) que é fixa dependendo apenas da concentração do composto.

De acordo com a tabela 8, a fracção livre dos vinhos brancos e vinhos tintos é muito semelhante mas a quantidade total é muito superior nos vinhos brancos do que nos vinhos tintos o que significa que os vinhos brancos apresentam um teor de SO<sub>2</sub> combinado mais elevado do que nos vinhos tintos. Isto deve-se ao facto de, a baixas temperaturas (usadas durante todo o processo de vinificação e engarrafamento), a proporção de SO<sub>2</sub> livre ser menor do que a fracção combinada o que, apesar do baixo pH, implica a adição de mais SO<sub>2</sub> para se obter a quantidade necessária de SO<sub>2</sub> molecular (Ribéreau-Gayoun *et. al.*, 2006). É também de ter em conta que os vinhos brancos possuem maior teor de etanal o que também justifica o valor de SO<sub>2</sub> combinado mais elevado do que nos tintos (Liu, *et.al.*, 2000)

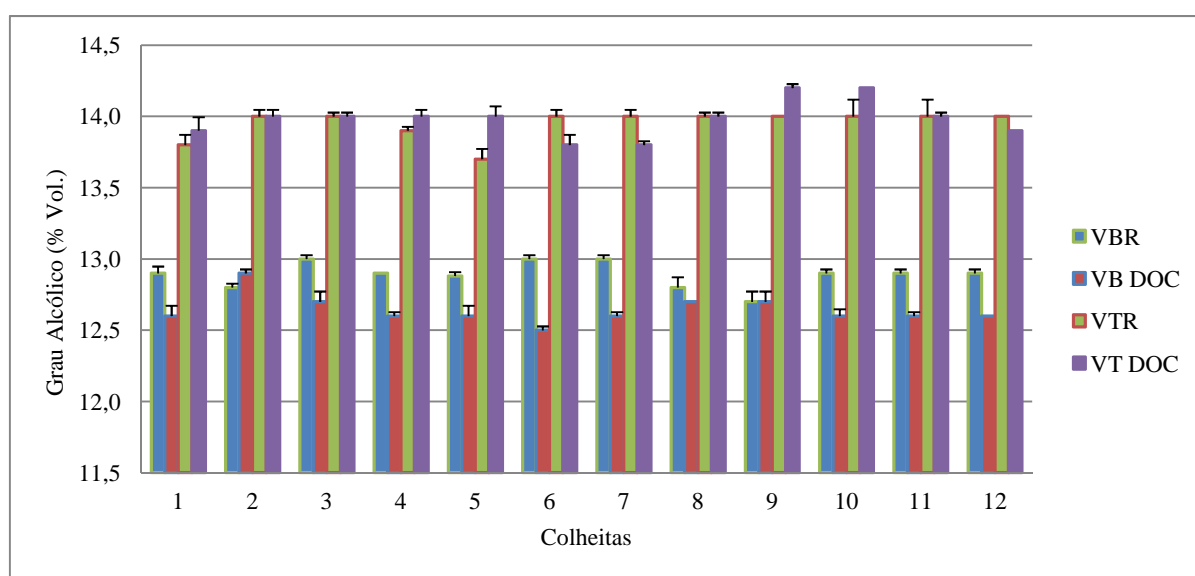
Em relação aos vinhos tintos, os valores baixos obtidos (em relação aos vinhos brancos) pode ser explicado pela presença de antocianinas que, tendo a também propriedades antioxidantes, reduzem a necessidade de adicionar grandes quantidades de SO<sub>2</sub> bem como o facto de que o SO<sub>2</sub> pode provocar a descoloração temporária dos vinhos tintos.

**Tabela 8:** Quantificação do teor de SO<sub>2</sub> livre e total

Amostra 1 (VBR)		Amostra 2 (VB DOC)		Amostra 3 (VTR)		Amostra 4 (VT DOC)	
SO <sub>2</sub> Livre mg/dm <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> Total mg/dm <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> Livre mg/dm <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> Total mg/dm <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> Livre mg/dm <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> Total mg/dm <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> Livre mg/dm <sup>3</sup>	SO <sub>2</sub> Total mg/dm <sup>3</sup>
24	126	16	92	32	52	22	30
26	124	16	86	30	60	26	56
36	136	26	118	40	60	30	42
28	132	18	110	20	90	20	41
20	152	48	163	30	46	34	50
30	134	36	163	58	132	26	42
28	140	48	160	58	130	36	48
20	130	46	160	58	138	24	42
44	164	46	154	58	130	38	60
44	162	48	150	58	126	32	60
44	162	50	160	56	122	38	70
50	164	50	160	44	120	38	60

Após as fermentações, o teor de açúcares é muito baixo não sendo suficiente para permitir o crescimento microbiano em quantidades suficientes que alterem o grau alcoólico e, a adição de SO<sub>2</sub>

após as fermentações dificulta ainda mais a possibilidade de aumentar este teor. Assim, o teor de etanol está dependente do teor de açúcares (Jackson, 2008) que é diferente consoante a casta, as temperaturas de fermentação, a estirpe da levedura e bactérias presentes, da composição do mosto, da decisão do enólogo sobre o tipo de vinho que pretende e também, no caso destes vinhos, das regras de certificação. Assim, a evolução após as fermentações deve ser constante. No caso destas amostras, os vinhos tintos apresentam teores alcoólicos superiores aos vinhos brancos (Figura 26; Tabela 9).



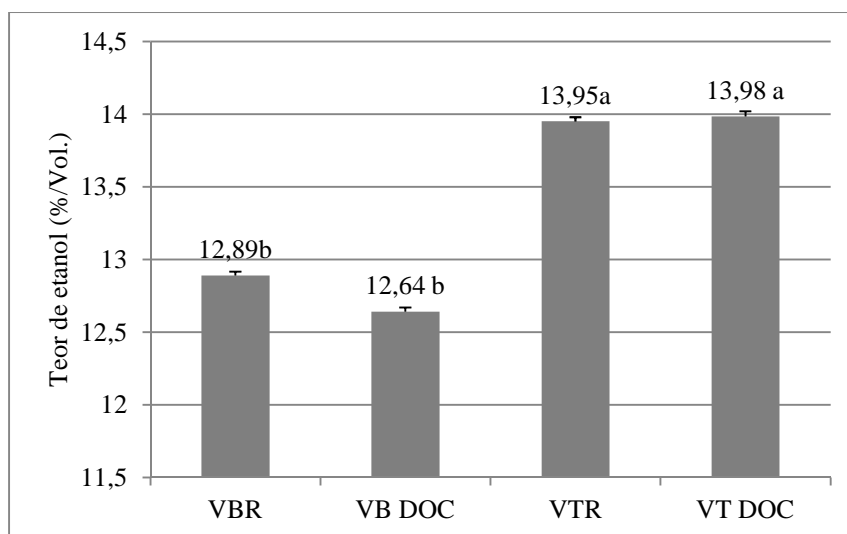
**Figura 26:** Evolução do grau alcoólico no vinho.

**Tabela 9:** Valores médios do teor de etanol dos vinhos. Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas entre as colheitas de cada vinho, para um grau de confiança de 95%.

	Colheitas (%/Vol.)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>VBR</b>	12,9 <sup>a</sup>	12,8 <sup>a</sup>	13,0 <sup>a</sup>	12,9 <sup>a</sup>	12,9 <sup>a</sup>	13,0 <sup>a</sup>	13,0 <sup>a</sup>	12,8 <sup>a</sup>	12,7 <sup>b</sup>	12,9 <sup>a</sup>	12,9 <sup>a</sup>	12,9 <sup>a</sup>
<b>VB DOC</b>	12,6 <sup>a</sup>	12,9 <sup>a</sup>	12,7 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>	12,5 <sup>b</sup>	12,6 <sup>b</sup>	12,7 <sup>a</sup>	12,7 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>
<b>VTR</b>	13,8 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	13,9 <sup>a</sup>	13,7 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>
<b>VT DOC</b>	13,9 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	13,8 <sup>b</sup>	13,8 <sup>b</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,2 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>	14,0 <sup>a</sup>

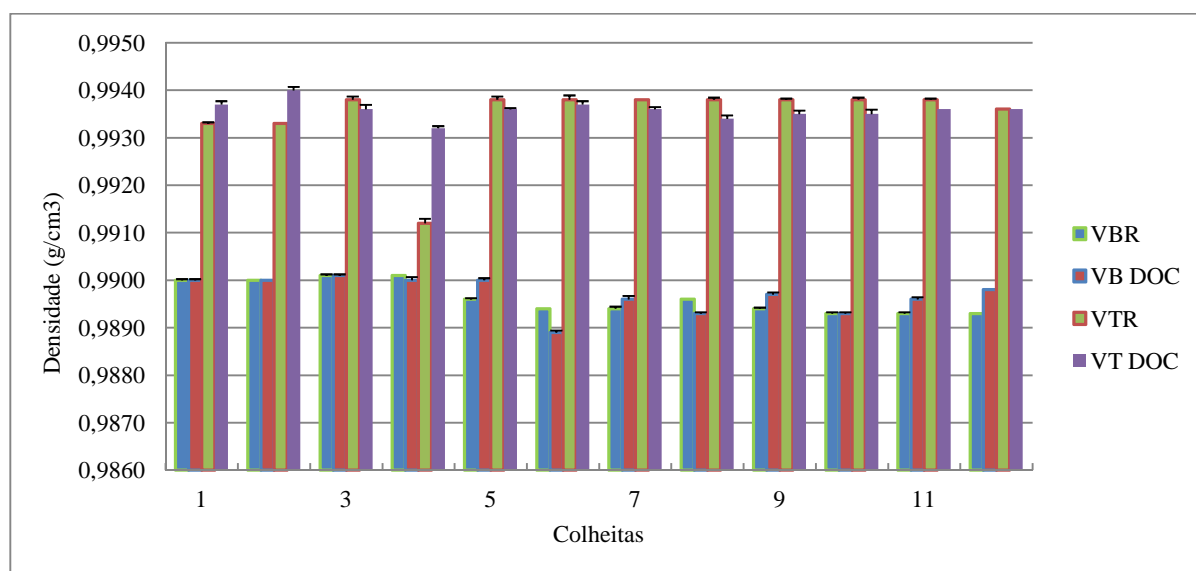
Como já foi referido, se a concentração de açúcares nas uvas tintas for superior, os teores de etanol também o são e conseqüentemente a densidade também. Em relação a outros factores como a temperatura de fermentação (mais baixa nos vinhos brancos) também pode explicar as diferenças.

Estas diferenças estão representadas nos resultados do teste ANOVA, que mais uma vez comprovam (com 95% de probabilidade) as diferenças significativas entre vinhos brancos e vinhos tintos (Figura 27).



**Figura 27:** Análise do grau alcoólico pelo teste ANOVA. As amostras com a mesma letra indicam ausência de diferenças significativas ( $P \geq 95\%$ ).

Tal como nas restantes análises, a evolução da massa volúmica não apresenta grandes variações à excepção das análises 4 das amostras 1 e 2 e análise 6 da amostra 2 que foram realizadas por uma empresa externa. Esta variação pode então estar relacionada com o método de análise. Esta análise é a única que mostrou uma grande variação entre laboratórios.

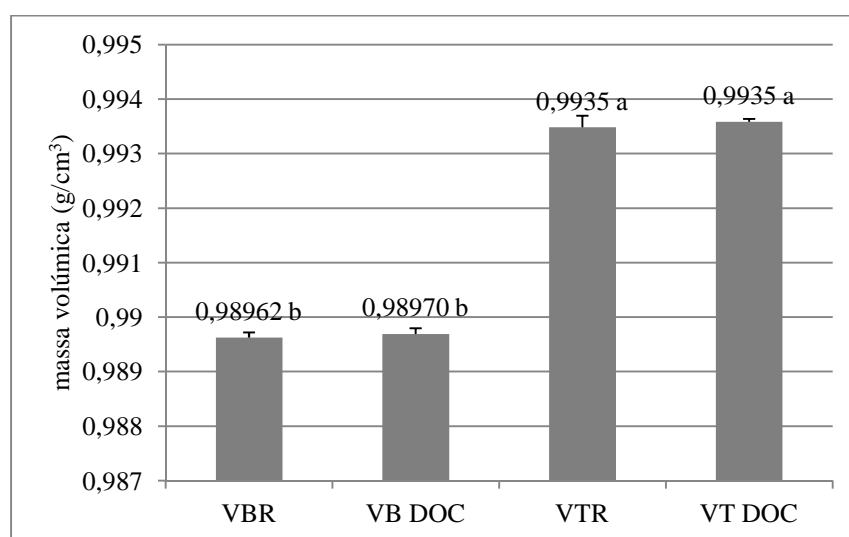


**Figura 28:** Evolução da massa volúmica do vinho.

**Tabela 10:** Valores médios da massa volúmica dos vinhos. Letras diferentes mostram a existência de diferenças significativas entre as colheitas de cada vinho, para um grau de confiança de 95%.

	Colheitas (g/cm <sup>3</sup> )											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>VBR</b>	0,9900 <sub>a</sub>	0,9900 <sub>a</sub>	0,9901 <sub>a</sub>	0,9901 <sub>a</sub>	0,9896 <sub>b</sub>	0,9894 <sub>c</sub>	0,9894 <sub>c</sub>	0,9896 <sub>b</sub>	0,9894 <sub>c</sub>	0,9893 <sub>c</sub>	0,9893 <sub>c</sub>	0,9893 <sub>c</sub>
<b>VB DOC</b>	0,9900 <sub>a</sub>	0,9900 <sub>a</sub>	0,9901 <sub>a</sub>	0,9900 <sub>a</sub>	0,9900 <sub>a</sub>	0,9889 <sub>d</sub>	0,9896 <sub>b</sub>	0,9893 <sub>c</sub>	0,9897 <sub>b</sub>	0,9893 <sub>c</sub>	0,9896 <sub>b</sub>	0,9898 <sub>a</sub>
<b>VTR</b>	0,9933 <sub>b</sub>	0,9933 <sub>b</sub>	0,9938 <sub>a</sub>	0,9912 <sub>c</sub>	0,9938 <sub>a</sub>	0,9938 <sub>a</sub>	0,9938 <sub>a</sub>	0,9938 <sub>a</sub>	0,9938 <sub>a</sub>	0,9938 <sub>a</sub>	0,9938 <sub>a</sub>	0,9938 <sub>a</sub>
<b>VT DOC</b>	0,9937 <sub>a</sub>	0,9940 <sub>a</sub>	0,9936 <sub>b</sub>	0,9932 <sub>c</sub>	0,9936 <sub>b</sub>	0,9937 <sub>a</sub>	0,9936 <sub>b</sub>	0,9934 <sub>b</sub>	0,9935 <sub>b</sub>	0,9935 <sub>b</sub>	0,9936 <sub>b</sub>	0,9936 <sub>b</sub>

As amostras de vinho tinto apresentam valores superiores de massa volúmica do que as amostras de vinho branco (Figura 28; Tabela 10) que são, com uma probabilidade de 95%, significativamente diferentes (Figura 29). A massa volúmica está dependente dos teores de açúcar do mosto (Curvelo-Garcia, 1988): O decréscimo da concentração de açúcares e o aumento do teor de etanol resulta na diminuição dos valores deste parâmetro (Ribéreau-Gayon, *et. al.*, 2006).



**Figura 29:** Análise da massa volúmica pelo teste ANOVA. As amostras com a mesma letra indicam ausência de diferenças significativas ( $P \geq 95\%$ ).

Deve referir-se também que, em relação a todas as análises subsistiram diferenças significativas ao longo do tempo, não se verificando uma evolução linear. Esta tendência poderá decorrer de pequenas alterações no vinho, associadas à acção de microrganismos, a factores ambientais, como a temperatura, e também a procedimentos da vinificação como trasfegas e homogeneizações.

### 3.2. Análises Microbiológicas

Ao nível microbiológico foram contabilizadas 5 amostras (4 de VBQ e 1 VBR) com valores incontáveis de bactérias que, após a repetição da análise, com recurso às amostras testemunha,

permitiu identificar um falso positivo em relação ao vinho. Nestes casos, a origem da contaminação pode ser variada, desde o manuseamento da amostra em laboratório ou na sua recolha, até contaminação durante o engarrafamento por matérias subsidiárias, ar, através dos funcionários ou mesmo problemas no processo de filtração.

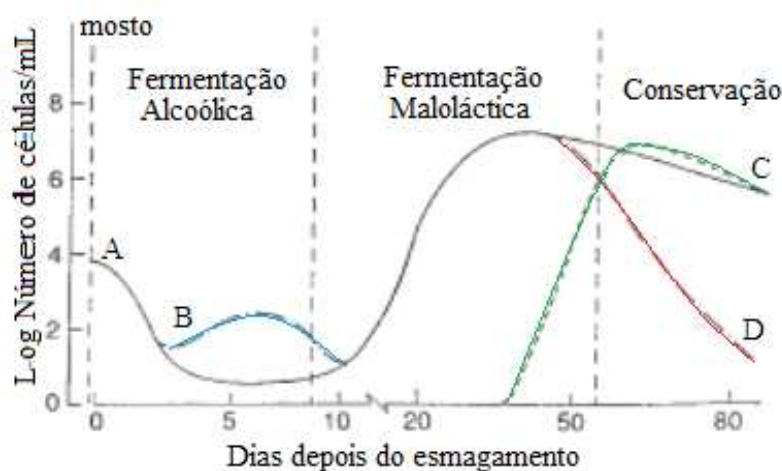
De acordo com a tabela 11, os vinhos tintos são os que apresentam maior número de microrganismos isto porque mesmo passando por filtros e com a adição de SO<sub>2</sub>, o vinho tinto está mais susceptível porque o pH deste vinho é superior ao vinho branco, a temperatura de engarrafamento também é superior e porque contêm mais compostos energéticos o que torna-o um meio mais propício ao crescimento de microrganismos.

**Tabela 11:** Valores médios de unidades formadoras de colónias contabilizadas (por 100 mL).

	Leveduras	Bactérias	Fungos
VBR	0,3467	11,115	0,231
VB DOC	0,463	7,154	0,385
VTR	3,5	40,615	0,462
VT DOC	4,846	17,08	0,08

Apesar de terem sido contabilizados microrganismos nas amostras, a quantidade destes é pequena para se considerar que existe perigo de contaminação.

A Figura 30 mostra a evolução do número de microrganismos durante e após as fermentações.



**Figura 30:** Diagrama da evolução microbiana no vinho desde a fermentação alcoólica até ao armazenamento. Crescimento da bactéria *O. oeni* a pH inferior a 3.5 (A) e superior a 3.5 (B) durante as etapas de fermentação e a sua reacção (D) ao crescimento de outras espécies (C) na última parte da FML e na conservação do vinho (Fonte: Adaptado de Jackson, 2008).

Este gráfico é representativo do que ocorre nos vinhos tintos em relação a bactérias. Vinhos com valores de pH acima dos 3.5 são mais susceptíveis de conter, durante a conservação do vinho, mais microrganismos do que em meios de pH inferior. Em relação às leveduras, estas conseguem

sobreviver às alterações do meio e são as que melhor se adaptam a ele e permanecer mesmo durante o armazenamento (Ribéreau-Gayoun *et. al.*, 2006). Em relação aos fungos, os valores médios obtidos não são significativos. A contaminação dos vinhos com fungos é natural, pois estes encontram-se nos solos e, através de ventos e animais, conseguem depositar-se nas uvas. Como estes se desenvolvem bem em meios de pH baixo, actividade da água baixa e com elevada concentração de açúcares, a sua proliferação pode ocorrer durante a vinificação (Malfeito-Ferreira, *et. al.*, 2009).

Como o meio usado nestas análises não é diferenciado, ou seja não é possível identificar géneros e espécies, o recurso a análises químicas pode ser fundamental para despistar uma possível contaminação mas, a presença destes organismos pode não estar associada aos vinhos mas sim ao processo de engarrafamento, materiais usados, como rolhas, exposição ao ar e a águas.

### 3.3. Análises Sensoriais

De acordo com Jackson (2002), “é mais fácil perceber qualidade do que descrevê-la” o que resume os resultados obtidos.

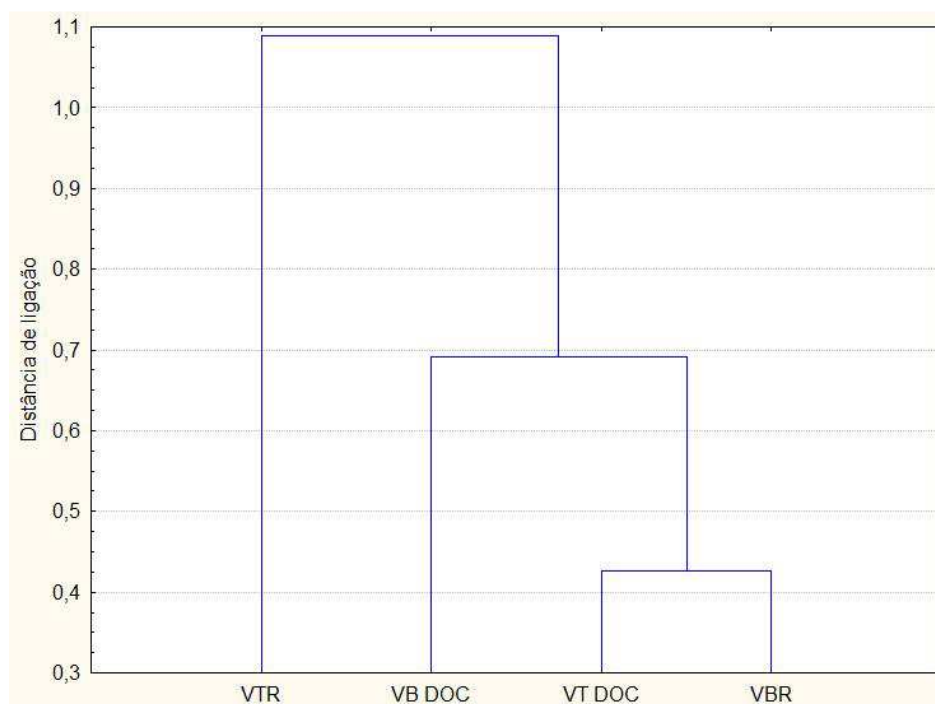
Os testes de preferência foram apresentados a 50 provadores não treinados, sendo 54% destes do sexo masculino, 58% dos inquiridos com idades entre 25 e 39 anos e 58% são consumidores ocasionais. Os resultados mostram que, quando confrontados com uma compra de vinho, cerca de 45% opta por vinhos de acordo com o sabor, o que mostra que grande parte dos inquiridos escolhe primeiro vinhos que lhe são familiares em oposição à compra de produtos que lhes são desconhecidos. Contudo, a compra de vinhos de acordo com a região vitivinícola, é também um factor importante quando se escolhem novos vinhos (com uma média de pontuação de 5,63 em 11 pontos possíveis). Infelizmente, cerca de 90% não conhecia os vinhos da ACP antes desta prova.

**Tabela 12:** Apreciação dos vinhos. Média dos resultados obtidos no inquérito de apreciação após degustação dos vinhos em análise, classificados de 1 a 5, sendo 5 uma característica muito apreciada.

	VBR	VB DOC	VTR	VT DOC
<b>Cor</b>	3,71	3,67	3,21	3,79
<b>Aroma</b>	3,92	3,17	2,54	3,63
<b>Sabor</b>	3,83	3,04	2,29	3,54
<b>Rótulo/Imagem</b>	3,54	3,42	3,54	3,46

De acordo com a tabela 12, a apreciação dos vinhos foi muito semelhante para todos os inquiridos. Cerca de 79% preferiu o VBR ao VB DOC indicando que o aroma é mais fresco e frutado, doce e leve ao contrário do VB DOC que foi percebido como sendo mais denso e robusto, mais ácido e até mais agressivo. Em relação aos vinhos tintos, o VTR foi o menos apreciado, caracterizando-o como

sendo muito forte e agressivo, pesado e ácido. O VT DOC foi mais bem aceite, com 83% de preferência. Para este vinho a descrição foi bem diferente: mais suave e com sabor mais intenso a uva.



**Figura 31:** Dendrograma de quatro vinhos de acordo com os resultados obtidos nas análises sensoriais.

De referir que nem todos os inquiridos apreciam os vinhos brancos e vinhos tintos, o que pode ter influência nos resultados obtidos. É também importante dizer que para um consumidor não treinado é muito difícil identificar aromas e sabores num meio organolepticamente complexo como o vinho. É mais fácil identificar características, principalmente o doce e o ácido e o sabor forte ou leve, do que identificar traços florais ou frutados. Daí as diferenças entre a caracterização pelo enólogo e a percepção do consumidor. Para este facto também contribui a primeira impressão do vinho, se o consumidor não gosta então não conseguirá caracteriza-lo porque a sensação desagradável domina-o.

Quando questionados se comprariam algum destes vinhos, 16% não comprava nenhum, 37.5% compraria o VBR, 25% compraria o VT DOC, 8% compraria o VTR e 8% o VB DOC. A figura 31 mostra a preferência dos consumidores de acordo com a tabela de classificação, comprovando os resultados anteriormente referidos.



## 4. Conclusão

O processo de produção de um vinho de qualidade é complexo. Para além de todos os factores inerentes à produção vitícola, desde factores edafoclimáticos, nomeadamente a escolha do sistema de condução, a selecção das castas e os tratamentos fitossanitários, os métodos e meios usados durante a vinificação também influenciam de forma determinante a formação do vinho, podendo afirmar-se que o vinho é obtido a partir das interacções entre todos estes factores.

Em relação aos aspectos de vinificação, as etapas de fermentação são sem dúvida as que mais contribuem para o produto final, contudo não se podem excluir os outros procedimentos que, de uma forma mais ou menos acentuada, também influenciam as características do vinho. Assim, o conhecimento do processo de vinificação e de todos os compostos intervenientes é essencial para um controlo eficaz. Aqui se nota a importância do enólogo na produção de um vinho, e que se estende, desde a prova e modificação do produto, até ao controlo do processo produtivo e interpretação dos resultados analíticos.

A importância das fermentações está muito associada aos microrganismos presentes no meio, quer através de inoculação, quer pela sua flora natural, ou por contaminações. Estes microrganismos são responsáveis pela modificação dos mostos e produção de compostos que alteram as qualidades organolépticas do vinho. Mas, os teores e a variedade dos compostos obtidos estão muito associados à composição química do meio e à quantidade e diversidade de microrganismos que o compõem. A evolução destes processos já permitiu a diminuição da variedade de espécies microbianas que interferem na fermentação através de sulfitagem seguida de inoculação. Aliás, a sulfitagem é o método mais usado (para além das filtrações) na diminuição da carga microbiana dos mostos e vinhos permitindo assim que haja uma minimização dos seus efeitos adversos e de possíveis contaminações aumentando o tempo de conservação dos vinhos.

A forma mais rápida de avaliação da evolução do vinho é através das análises físico-químicas e sensoriais e também são efectuadas análises microbiológicas para despiste de possíveis contaminações. Elas permitem um controlo do processo de forma a assegurar que não ocorrem erros ou desvios, ou seja contribuem para o controlo de qualidade e da segurança alimentar do produto.

Neste trabalho, os valores analisados de quatro vinhos (dois brancos e dois tintos) após a formulação do lote, permitiu visualizar os efeitos das fermentações. Isto porque, após as fermentações, não existem etapas no processo de vinificação que alterem significativamente os resultados analíticos e se estas alterações existirem estas são normalmente justificadas por contaminações microbianas. Ou seja, em condições normais de produção, após os processos fermentativos, a composição do vinho não se altera até ao engarrafamento, o que se verificou nos resultados obtidos. Os resultados obtidos

permitiram concluir que, nos planos químico e físico, os vinhos brancos se assemelham mais entre si, e os tintos também (pois o processo de vinificação é muito semelhante), mas existem diferenças significativas entre brancos e tintos. Esta tendência decorre da diferenciação, tanto os processos de fabrico como as castas, obtendo-se assim vinhos diferentes. Para além destes factores, deve também frisar-se que todos os procedimentos culturais durante o desenvolvimento da vinha (por exemplo, adubações e podas) bem como a composição do solo e as condições climáticas, afectam a composição química e os parâmetros físicos do vinho.

Estas análises também mostraram o quão importante é a acidez para os vinhos, não só como factor de avaliação para uma possível contaminação, mas também por influenciar inúmeros outros factores, como é o caso do SO<sub>2</sub>, e principalmente no que respeita às características organolépticas dos vinhos. Este parâmetro, a par das fermentações, é um dos mais estudados em enologia. Em termos físico-químicos todos os vinhos estavam dentro das especificações e não houve variações significativas (excepto na determinação da massa volúmica) entre as análises da adega e as análises externas.

Nas análises microbiológicas realizadas ao produto final, o número de microrganismos contabilizados foi muito pequeno para ser significativo e, tendo em conta que as amostras com valores incontáveis de microrganismos, quando submetidas a nova análise, não apresentavam valores tão elevados, sugere que as primeiras amostras foram contaminadas com outras fontes, nomeadamente o meio ambiente e o contacto com rolhas ou garrafas. A colheita da amostra também pode ter influência, a par da limpeza dos equipamentos de engarrafamento e filtração. Nestes casos, o controlo da higiene das máquinas e dos processos de recolha e análise das amostras é essencial. Contudo, é de salientar que as amostras de vinho tinto obtiveram uma média de microrganismos superior à dos vinhos brancos, justificada pelas condições do meio que facilitam a contaminação ao contrário dos vinhos brancos.

Mesmo assim, e apesar destas diferenças, o vinho é considerado um meio microbiologicamente estável, porque a formação de etanol, a acidez elevada e o esgotamento dos nutrientes, bem como a adição de SO<sub>2</sub>, torna-o muito pouco susceptível de desenvolver microrganismos patogénicos e promove uma conservação eficaz do vinho.

Em relação às provas sensoriais, os resultados mostram que, para um painel não treinado, torna-se muito difícil identificar e diferenciar os aromas e os sabores dos vinhos e estas descrições são muito influenciadas pela preferência dos inquiridos. Apesar disso, a maioria dos inquiridos conseguiu perceber algumas características destes vinhos principalmente nos brancos que são organolepticamente menos complexos que os vinhos tintos. Assim, não é de estranhar que o consumidor prefira comprar vinhos que já conhece ao invés de procurar novos vinhos.

Os compostos que podem ser obtidos durante este processo são inúmeros. Assim, um vinho não é apenas um sumo de uva com teor alcoólico. É uma bebida de aromas e sabores muito complexos, por vezes muito diferentes dos originais das castas, produzido a partir de um processo longo em que o conhecimento das características químicas e a microbiologia das uvas, de todas as reacções que podem ocorrer entre elas, da sua evolução ao longo do tempo e do processo e dos factores externos (como a temperatura e a humidade), é essencial para que o processo ocorra na perfeição e obter-se, assim, um vinho de que possa ser considerado de qualidade.



## Bibliografia

### ▪ Livros e Artigos Científicos:

- Cardoso, António Dias (2007) *O Vinho – Da Uva à Garrafa*; Âncora Editora; Coimbra; 423 pp.
- Cheyrier, Véronique; Schneider, Rémi; Salmon, Jean-Michel; Fulcrand, Hélène (2010) *Chapter 3.26 – Chemistry of Wine*. In: Lew Mander, Hung-Wen (Ben) Liu (Editores) *Comprehensive Natural Products II – Volume 3: Development and Modification of Bioactivity*; Elsevier; Londres; Reino Unido; 1119-1172 pp.
- Constantini, Antonella; Garcia-Moreno, Emília; Moreno-Arribas, M. Victoria (2009) *Chapter 2: Biochemical Transformations Produced by Malolactic Fermentation*. In: M. Victoria Moreno-Arribas e M. Carmen Polo (Editores), *Wine Chemistry and Biochemistry*; Springer; Nova Iorque, Estados Unidos da América, 2 -57 pp.
- Curvelo-Garcia, A. S. (1988) *Controlo de Qualidade dos Vinhos – Química Enológica, Métodos Analíticos*; Instituto da Vinha e do Vinho; Lisboa; 420 pp.
- Garde-Cerdán, Teresa; Ancíni-Azpilicueta, Carmen (2006) *Effect of SO<sub>2</sub> on the Formation and Evolution of Volatile Compounds in Wines*, Elsevier; Food Control 2007 (18) 1501-15-06 pp.
- Grainger, Keith; Tattersall, Hazel (2005) *Wine Production – Wine to Bottle*; Blackwell Publishing; Oxford, Reino Unido; 130 pp.
- Gutierrez, L. E. (1993) *Produção da Alcoois Superiores por Linhagens de Saccharomyces Durante a Fermentação Alcoólica*; Scienta Agricola; Piracicaba; Brasil; 50 (3), 464-472 pp. (Consultado em: <http://www.scielo.br/pdf/sa/v50n3/21>)
- Jackson, Ronald S. (2002) *Wine Tasting: A Professional Handbook*; Elsevier – Academic Press; Califórnia; Estados Unidos da América; 296 pp.
- Jackson, Ronald S. (2008) *Wine Science – Principles and Applications, 3<sup>rd</sup> Edition*; Elsevier; Oxford; Reino Unido; 770 pp.
- Liu, Shao-Quan.; Pilone, Gordon J. (1998) *An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications*; International Journal of Food Science and Technology 2000 (35) 49-61 pp.
- Lonvaud-Funel, Aline (1995) *Microbiology of the Malolactic Fermentation: Molecular Aspects*; Elsevier; FEMS Microbiology Letters 1995 (126) 209-214 pp.
- Loureiro, V.; Malfeito-Ferreira, M. (2003) *Spoilage Yeasts in the Wine Industry*; International Journal of Food Microbiology; Elsevier; (86) 23-50 pp.
- Malfeito-Ferreira, Manuel; Barata, André; Loureiro, Virgílio (2009) *Chapter 11: Wine Spoilage by Fungal Metabolites*. In: M. Victoria Moreno-Arribas e M. Carmen Polo (Editores), *Wine Chemistry and Biochemistry*; Springer; Nova Iorque, Estados Unidos da América, 615-645 pp.
- Moreira, N.; Ruão, P.; Couto, J. A.; Vasconcelos, I.; Pinho, P. Guedes de (2011) *Effect of malolactic fermentation on the volatile profile of wines*. In: 34th World Congress of Vine and Wine, 34 - The Wine Construction, Porto, Portugal, 20-27 June, 2011

Navarre, Colette (1997) *Enologia – Técnicas de Produção do Vinho*; Publicações Euro-América; Sintra; 310 pp.

Organização Internacional da Vinha e do Vinho (2012); *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis – Volume 1*; OIV; Paris, França; 488 pp.

Organização Internacional da Vinha e do Vinho (2012); *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis – Volume 2*; OIV; Paris, França; 620 pp.

Ribéreau-Gayon, Pascal; Dubourdieu, Denis; Donèche, Bernard; Louvaud, Aline (2006) *Handbook of Enology Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications, 2<sup>nd</sup> Edition*; Wiley; West Sussex; Reino Unido; 497 pp.

Ribéreau-Gayon, Pascal; Glories, Y.; Maujean, A.; Dubourdieu, D. (2006) *Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments, 2<sup>nd</sup> Edition*; Wiley; West Sussex; Reino Unido; 441 pp.

Rizzon, Luís A.; Zanuz, Mauro C.; Miele, Alberto (1988) *Evolução da Acidez Durante a Vinificação de Uvas Tintas de Três Regiões Vitivinícolas do Rio Grande do Sul*; Embrapa Uva e Vinho; Ciência e Tecnologia Alimentar (18) n.º. 2; 179-183 pp. (Consultado em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20611998000200007&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000200007&lang=pt))

Silva, Gildo; Muratore, Liliane (2003) *Influência da Fermentação Maloláctica Espontânea Sobre a Evolução da Acidez Volátil em Vinhos Cabernet Sauvignon*; Embrapa Uva e Vinho; Simpósio Nacional de Fermentações 2003 (Consultado em: [https://www.google.pt/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CDEQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.enq.ufsc.br%2Feventos%2Fsinafarm%2Ftrabalhos\\_completos%2Ft296.doc&ei=g\\_Y4UojUEsTIhAemLIC4Cw&usq=AFQjCNH4s\\_u3GQBV\\_KZipn\\_ZaLeE3C4\\_NA&sig2=yeDFD3LcSZEMiXujIe2B1g](https://www.google.pt/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CDEQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.enq.ufsc.br%2Feventos%2Fsinafarm%2Ftrabalhos_completos%2Ft296.doc&ei=g_Y4UojUEsTIhAemLIC4Cw&usq=AFQjCNH4s_u3GQBV_KZipn_ZaLeE3C4_NA&sig2=yeDFD3LcSZEMiXujIe2B1g))

Zamora, Fernando (2009) *Chapter 1: Biochemistry of Alcoholic Fermentation*. In: M. Victoria Moreno-Arribas e M. Carmen Polo (Editores), *Wine Chemistry and Biochemistry*; Springer; Nova Iorque, Estados Unidos da América, 3-26 pp.

#### ▪ **Páginas e Portais de Internet:**

Adeg Cooperativa de Palmela; *Adeg – Historia*; <http://www.acpalmela.pt/adega.html>; consultado em 25 de Abril de 2013

Comissão Vitivinícola da Região da Península de Setúbal; *Península de Setúbal – História*; [http://www.cvr-psetubal.net/CVRPS/Peninsula\\_Historia.aspx](http://www.cvr-psetubal.net/CVRPS/Peninsula_Historia.aspx); consultado em 24 de Abril de 2013

Infovini – O Portal do Vinho Português; *Península de Setúbal*; [www.infovini.com/pagina.php?codNode=3905](http://www.infovini.com/pagina.php?codNode=3905); consultado em 3 de Março de 2013

Instituto da Vinha e do Vinho (2012) *Expedição/Exportação de Vinho Engarrafado por País*; <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/180.html>; consultado em 24 de Abril de 2013

Instituto da Vinha e do Vinho (2013) *Evolução da Produção Nacional de Vinho por Região Vitivinícola*; <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/36>; consultado em 24 de Abril de 2013

Instituto da Vinha e do Vinho; *Parâmetros Analíticos*; <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/89>; consultado em 24 de Abril de 2013

Instituto da Vinha e do Vinho; *Península de Setúbal*; <http://www.ivv.min-agricultura.pt/np4/80>; consultado em 24 de Abril de 2013

Instituto Nacional de Estatística (2013) *Estatísticas Agrícolas 2012*; [http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_publicacoes&PUBLICACOESpub\\_boui=153381269&PUBLICACOESmodo=2](http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=153381269&PUBLICACOESmodo=2); consultado em 25 de Abril de 2013

Keys, David (2003) *Now That's What I Call a Real Vintage: Professor Unearths 8,000-Year-Old Wine*, <http://web.archive.org/web/20111005120059/http://www.independent.co.uk/news/science/now-thats-what-you-call-a-real-vintage-professor-unearths-8000yearold-wine-577863.html>, consultado em 3 de Março de 2013

Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Instituto da Vinha e do Vinho (2012) *Vinhos e Aguardentes de Portugal – Anuário 2010/11*; [http://www.winesofportugal.info/anuario\\_2011.pdf](http://www.winesofportugal.info/anuario_2011.pdf); consultado em 3 de Março de 2013

[1] <http://www.lifecooler.com/artigo/passear/adeqa-cooperativa-de-palmela/364387/>

▪ **Documentos da Adega Cooperativa de Palmela:**

Plano HACCP (2012)

Manual da Qualidade (2012)

Fluxograma do processo de fabrico de vinhos brancos (2011)

Fluxograma do processo de fabrico de vinhos tintos (2011)

Procedimento de determinação da acidez volátil pelo método Mathieu (2002)

Procedimento de determinação da acidez total (2002)

Procedimento de determinação do sulfuroso livre, combinado e total (2002)

Procedimento de determinação do teor alcoólico por ebulliometria (2002)

Procedimento de determinação da densidade (2002)

Método de colheita de amostras para controlo Microbiológico (2008)

Método de preparação de amostras para controlo microbiológico (2008)

Método de determinação de microrganismos totais – técnica de filtração por membrana (2008)

Especificações do produto final (2010)

▪ **Regulamentos**

Reg. (CE) n.º 606/2009 de 10 de Julho; Jornal Oficial da União Europeia n.º L 193/1; Comissão das Comunidades Europeias, Bruxelas (consultado em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:193:0001:0059:pt:PDF>)

Reg. (CE) n.º 491/2009 de 25 de Maio; Jornal Oficial da União Europeia n.º L 154/1; Comissão das Comunidades Europeias, Bruxelas (consultado em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:154:0001:0056:PT:PDF>)

Portaria 783/2009 de 24 de Julho; Diário da República 1ª Série n.º 142; Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas (consultado em: <http://dre.pt/pdf1sdip/2009/07/14200/0478204785.pdf>)

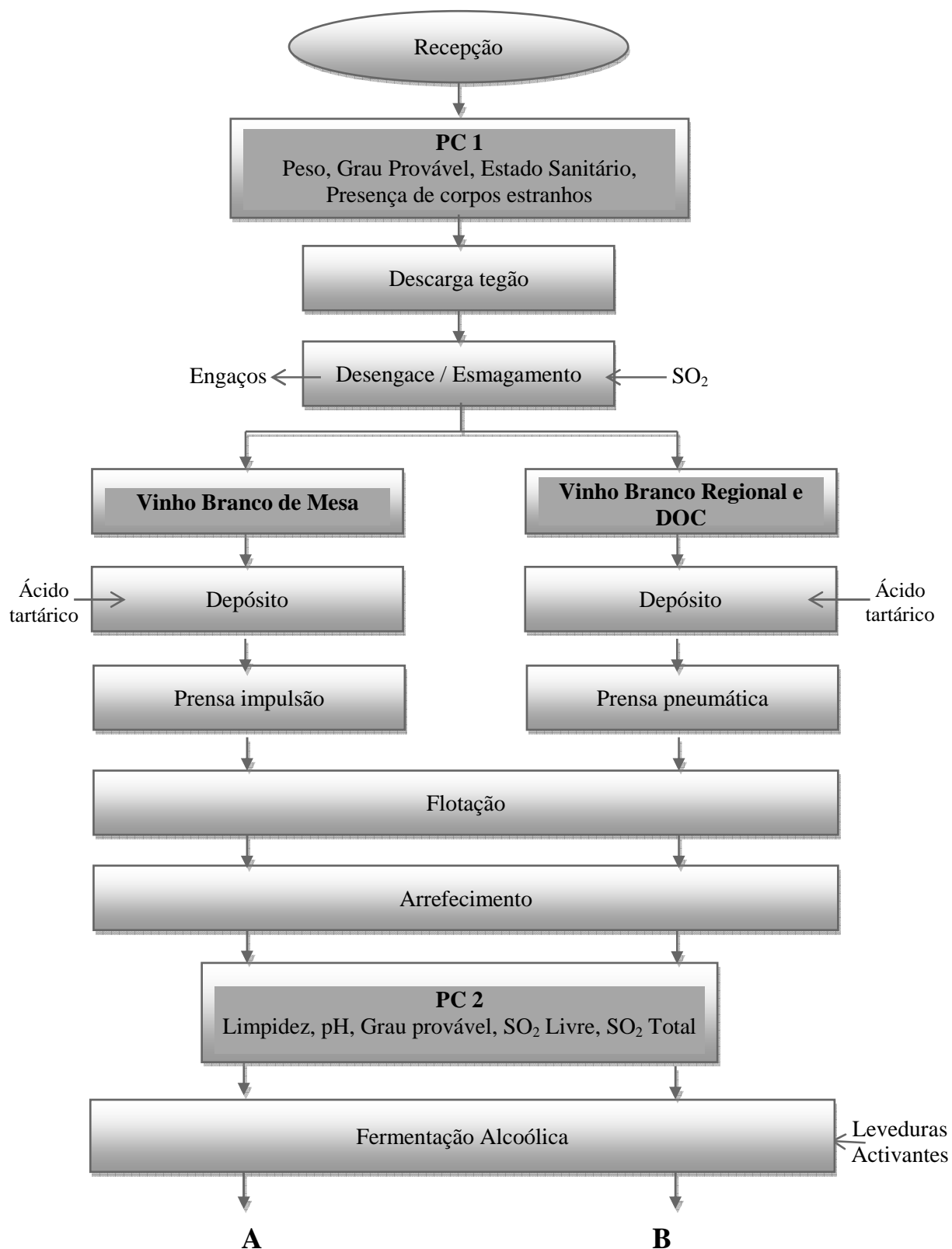
Portaria 985/82 de 19 de Outubro; Diário da República 1ª Série n.º 242; Ministério da Agricultura, do Comércio e das Pescas (consultado em: <http://www.dre.pt/pdf1s/1982/10/24200/34273450.pdf>)

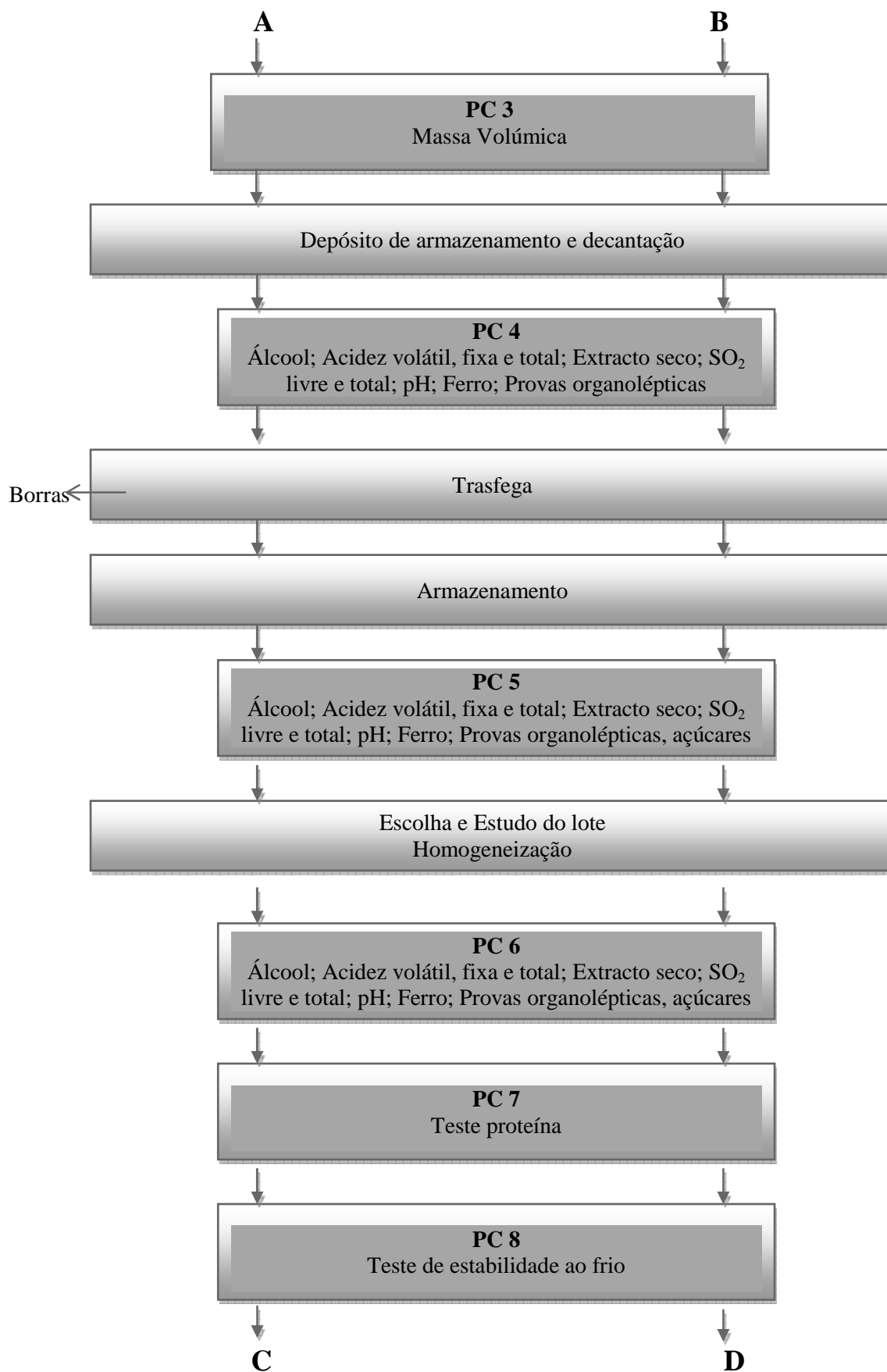
## **Anexos**

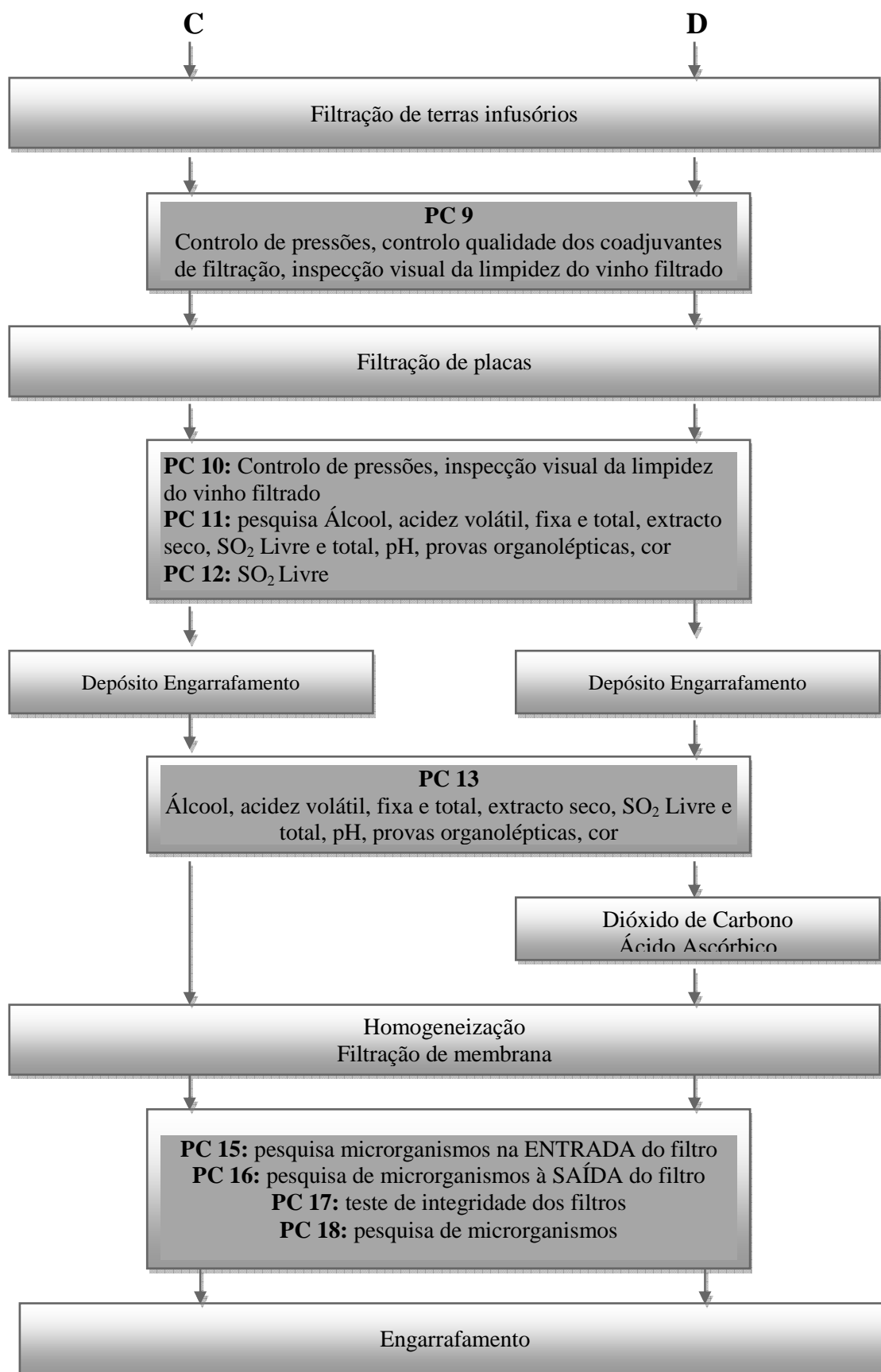


## ANEXO I : Fluxograma Simplificado de Produção de Vinho Branco

(Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Fluxograma do processo de fabrico de vinhos brancos, 2011)



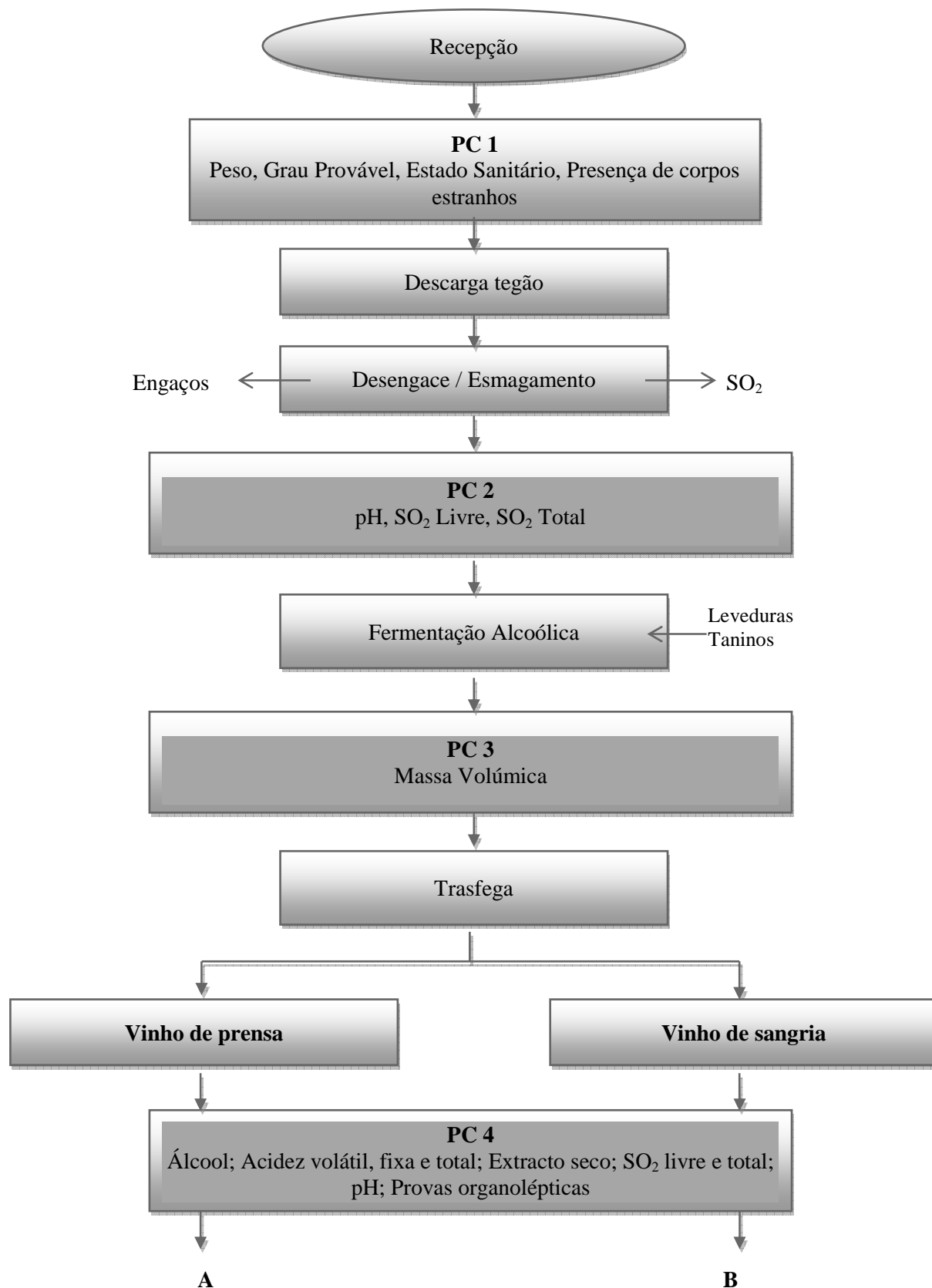


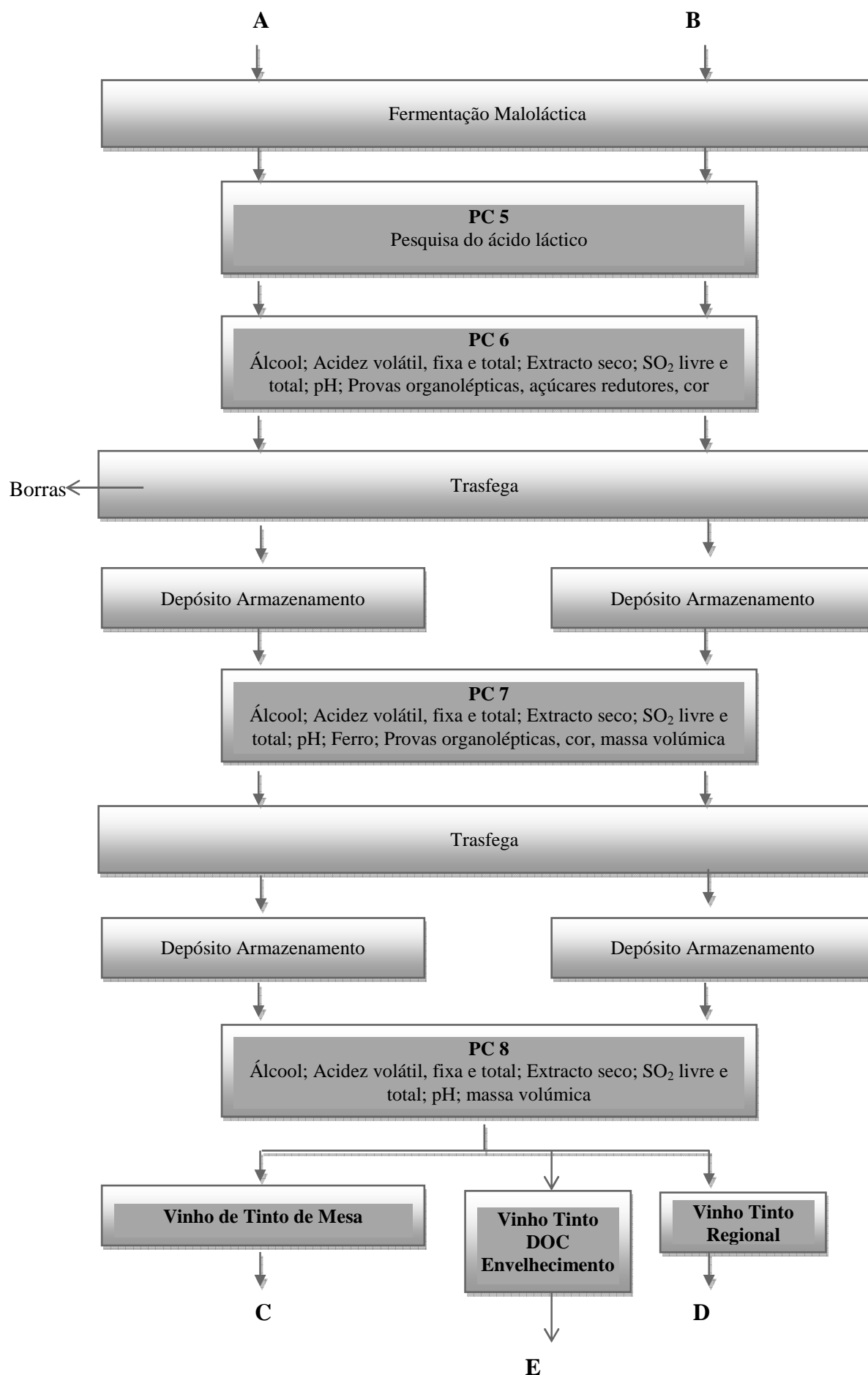


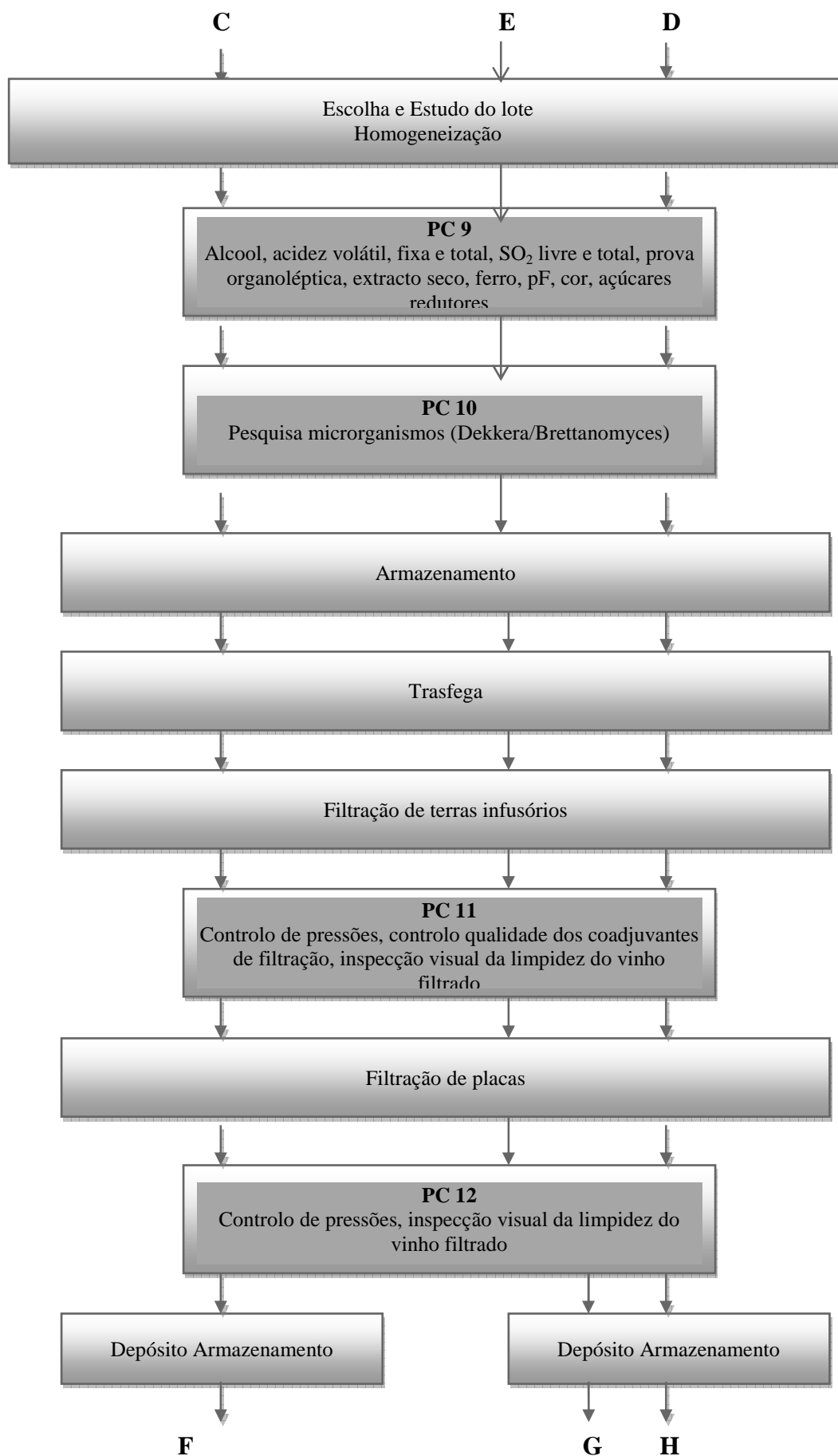


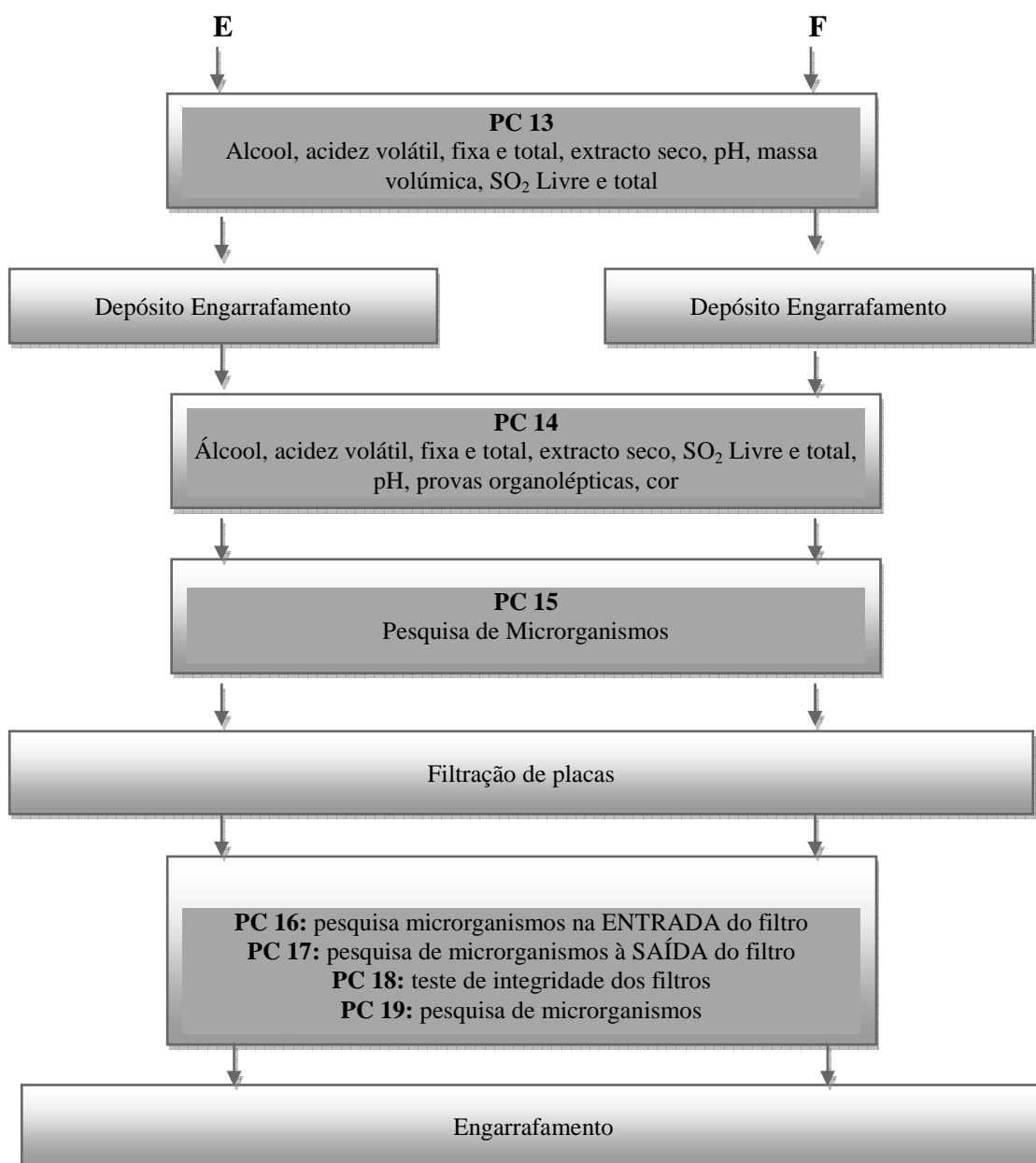
## ANEXO II : Fluxograma Simplificado de Produção de Vinho Tinto

(Fonte: Adega Cooperativa de Palmela: Fluxograma do processo de fabrico de vinhos tintos, 2011)









## ANEXO III: Tabela de Correção da Massa Volúmica

(Fonte: Organização Internacional da Vinha e do Vinho, 2012)

Table II  
Temperature corrections  $c$ , required for the density of dry wines and dry alcohol free wines, measured in a *Pyrex-glass* pycnometer at  $t^{\circ}\text{C}$ , in order to correct to  $20^{\circ}\text{C}$

$$\rho_{20} = \rho_t \pm \frac{c}{1000} \quad \begin{array}{l} - \text{ si } t^{\circ} \text{ est inférieure à } 20^{\circ}\text{C} \\ + \text{ si } t^{\circ} \text{ est supérieure à } 20^{\circ}\text{C} \end{array}$$

		Alcoholic strength																							
		0	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Temperatures in $^{\circ}\text{C}$	10°	1,59	1,64	1,67	1,71	1,77	1,84	1,91	2,01	2,11	2,22	2,34	2,46	2,60	2,73	2,88	3,03	3,19	3,35	3,52	3,70	3,87	4,06	4,25	4,44
	11°	1,48	1,53	1,56	1,60	1,64	1,70	1,77	1,86	1,95	2,05	2,16	2,27	2,38	2,51	2,63	2,77	2,91	3,06	3,21	3,36	3,53	3,69	3,86	4,03
	12°	1,36	1,40	1,43	1,46	1,50	1,56	1,62	1,69	1,78	1,86	1,96	2,05	2,16	2,27	2,38	2,50	2,62	2,75	2,88	3,02	3,16	3,31	3,46	3,61
	13°	1,22	1,26	1,28	1,32	1,35	1,40	1,45	1,52	1,59	1,67	1,75	1,83	1,92	2,01	2,11	2,22	2,32	2,44	2,55	2,67	2,79	2,92	3,05	3,18
	14°	1,08	1,11	1,13	1,16	1,19	1,23	1,27	1,33	1,39	1,46	1,52	1,60	1,67	1,75	1,94	1,93	2,03	2,11	2,21	2,31	2,42	2,52	2,63	2,74
	15°	0,92	0,96	0,97	0,99	1,02	1,05	1,09	1,13	1,19	1,24	1,30	1,36	1,42	1,48	1,55	1,63	1,70	1,78	1,86	1,95	2,03	2,12	2,21	2,30
	16°	0,76	0,79	0,80	0,81	0,94	0,86	0,89	0,93	0,97	1,01	1,06	1,10	1,16	1,21	1,26	1,32	1,38	1,44	1,51	1,57	1,64	1,71	1,78	1,85
	17°	0,59	0,61	0,62	0,63	0,65	0,67	0,69	0,72	0,75	0,78	0,81	0,85	0,88	0,95	0,96	1,01	1,05	1,11	1,15	1,20	1,25	1,30	1,35	1,40
	18°	0,40	0,42	0,42	0,43	0,44	0,46	0,47	0,49	0,51	0,53	0,55	0,57	0,60	0,63	0,65	0,68	0,71	0,74	0,77	0,81	0,84	0,87	0,91	0,94
	19°	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,32	0,33	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,42	0,44	0,46	0,47
	20°																								
	21°	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,38	0,40	0,41	0,43	0,44	0,46	0,48
	22°	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,49	0,51	0,52	0,54	0,56	0,59	0,61	0,63	0,66	0,69	0,71	0,74	0,77	0,80	0,83	0,87	0,90	0,93	0,97
	23°	0,68	0,70	0,71	0,72	0,74	0,76	0,78	0,80	0,83	0,86	0,90	0,93	0,96	1,00	1,03	1,08	1,13	1,17	1,22	1,26	1,31	1,37	1,41	1,46
	24°	0,93	0,96	0,97	0,99	1,01	1,03	1,06	1,10	1,13	1,18	1,22	1,26	1,31	1,36	1,41	1,47	1,52	1,58	1,64	1,71	1,77	1,84	1,90	1,97
	25°	1,19	1,23	1,25	1,27	1,29	1,32	1,36	1,40	1,45	1,50	1,55	1,61	1,67	1,73	1,80	1,86	1,93	2,00	2,08	2,16	2,24	2,32	2,40	2,48
26°	1,47	1,51	1,53	1,56	1,59	1,62	1,67	1,72	1,77	1,83	1,90	1,96	2,03	2,11	2,19	2,27	2,35	2,44	2,53	2,62	2,72	2,81	2,91	3,01	
27°	1,75	1,80	1,82	1,85	1,89	1,93	1,98	2,04	2,11	2,18	2,25	2,33	2,41	2,50	2,59	2,68	2,78	2,88	2,98	3,09	3,20	3,31	3,42	3,53	
28°	2,04	2,10	2,13	2,16	2,20	2,25	2,31	2,38	2,45	2,53	2,62	2,70	2,80	2,89	3,00	3,10	3,21	3,32	3,45	3,57	3,69	3,82	3,94	4,07	
29°	2,34	2,41	2,44	2,48	2,53	2,58	2,65	2,72	2,81	2,89	2,99	3,09	3,19	3,30	3,42	3,53	3,65	3,78	3,92	4,05	4,19	4,33	4,47	4,61	
30°	2,66	2,73	2,77	2,81	2,86	2,92	3,00	3,08	3,17	3,27	3,37	3,48	3,59	3,72	3,84	3,97	4,11	4,25	4,40	4,55	4,70	4,85	4,92	5,17	

Note: This table can be used to convert  $d_{20}^t$  to  $d_{20}^{20}$

OIV-MA-AS2-01A: R2009

11

COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS-OIV  
Alcoholic strength by volume



### ANEXO IV: Resultados de Análises Microbiológicas

Leveduras				Bactérias				Fungos			
VBR	VB DOC	VTR	VT DOC	VBR	VB DOC	VTR	VT DOC	VBR	VB DOC	VTR	VT DOC
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	18	0	0	15	0	0	0	0
0	0	0	0	56	0	0	0	0	2	0	0
0	0	0	0	0	84	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
0	12	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0
8	0	0	0	9	0	102	0	0	3	0	0
0	0	0	0	0	0	38	0	0	0	2	0
0	0	0	0	0	0	90	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	26	49	18	0	0	0	0
0	0	82	102	18	46	0	304	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	72	60	0	0	0	0
0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0
0	0	0	22	0	0	672	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	16	42	5	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	30	2	0	0	0	10	0
0	0	0	0	71	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	59	0	0	0	0	0	0	2
0	0	0	0	39	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	14	0	0	0	0	2	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0

(Os resultados obtidos como incontáveis foram substituídos pelos resultados obtidos através da análise da amostra testemunha)



## ANEXO V: Inquérito de Preferência

O seguinte inquérito é realizado no âmbito de uma Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar.

Este pequeno questionário consiste em duas partes. A 1ª parte corresponde a 5 questões gerais sobre a compra e aquisição de vinhos para consumo como bebida. A 2ª parte engloba a resposta a 7 questões com base na prova de 4 vinhos (2 brancos e 2 tintos) produzidos na Adega Cooperativa de Palmela com o objectivo de identificar quais os mais apelativos e as características mais apreciadas.

Obrigada pela sua participação e contribuição para este trabalho.

---

### 1ª Parte

1. Idade: \_\_\_\_\_

2. Sexo:  F

M

3. Tipo de consumidor

Regular  
(como acompanhamento de refeições)

Ocasional  
(em festas ou outras ocasiões pontuais)

4. Ordene, por ordem de importância, quais as características de um vinho que o influenciam na escolha e compra do mesmo:

<b>Sabor</b>		<b>Preço</b>	
<b>Aroma</b>		<b>Marca</b>	
<b>Aconselhamento de conhecidos</b>		<b>Aconselhamento de especialistas</b>	
<b>Região Produtora</b>		<b>Casta</b>	
<b>Grau alcoólico</b>		<b>Empresa</b>	
<b>Rótulo</b>		<b>Outro</b> _____	

5. Conhece os vinhos da Adega Cooperativa de Palmela? \_\_\_\_\_. Se sim, quais e de que forma tomou conhecimento deles (ex. publicidade, facebook)? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

---

**2ª Parte**

6. Prova de Vinhos Brancos: Após a prova de cada vinho, classifique-o numa escala de 1 a 5 quanto a:

(sendo 1 característica não apelativa e 5 característica muito apelativa)

	Vinho 1 – VBR					Vinho 2 – VB DOC				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Cor</b>										
<b>Aroma</b>										
<b>Sabor</b>										
<b>Rótulo / Imagem</b>										

7. Como descreve o aroma e o sabor os vinhos que provou? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

8. De entre os vinhos brancos que provou qual é o que aprecia mais? \_\_\_\_\_

9. Prova de Vinhos Tintos: Após a prova de cada vinho, classifique-o numa escala de 1 a 5 quanto a:

(sendo 1 característica não apelativa e 5 característica muito apelativa)

	Vinho 1 – VTR					Vinho 2 – VT DOC				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Cor</b>										
<b>Aroma</b>										
<b>Sabor</b>										
<b>Rótulo / Imagem</b>										

10. Como descreve o aroma e o sabor os vinhos que provou? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

11. De entre os vinhos brancos que provou qual é o que aprecia mais? \_\_\_\_\_

12. De todos os vinhos provados, compraria algum? \_\_\_\_\_  
Qual? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## ANEXO VI: Resultados dos Provas Sensoriais

### Idade

Idade	Percentagem
< 25	25%
25 - 39	58%
40 - 59	13%
> 60	4%

### Sexo

	Percentagem
Feminino	54%
Masculino	46%

### Tipo de consumidor

	Percentagem
Regular	42%
Ocasional	58%

Ordene, por ordem de importância, quais as características de um vinho que o influenciam na escolha e compra do mesmo:

	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	10º	11º
Sabor	46%	4%	13%	8%	4%	4%	4%	0%	0%	0%	4%
Aroma	0%	33%	8%	4%	4%	8%	8%	4%	0%	0%	0%
Aconselhamento de Conhecidos	13%	8%	8%	8%	8%	4%	0%	4%	8%	0%	0%
Região	17%	21%	4%	8%	4%	13%	8%	0%	0%	0%	0%
Grau Alcoólico	4%	4%	4%	13%	4%	13%	8%	4%	0%	4%	4%
Preço	13%	4%	21%	8%	13%	4%	4%	0%	0%	4%	0%
Marca	0%	8%	8%	17%	4%	4%	4%	8%	8%	0%	0%
Aconselhamento de Especialistas	4%	0%	0%	0%	4%	8%	8%	13%	8%	4%	0%
Casta	0%	8%	4%	4%	4%	0%	4%	8%	8%	17%	8%
Empresa	0%	0%	0%	4%	4%	0%	0%	8%	21%	13%	8%
Rótulo	0%	0%	4%	0%	13%	0%	4%	8%	0%	13%	21%

(Nota: nem todos os parâmetros foram classificados)

**Tabela de preferência de vinhos brancos e vinhos tintos**

	<b>VBR</b>	<b>VB DOC</b>	<b>VTR</b>	<b>VT DOC</b>
<b>Cor</b>	3,71	3,67	3,21	3,79
<b>Aroma</b>	3,92	3,17	2,54	3,63
<b>Sabor</b>	3,83	3,04	2,29	3,54
<b>Rótulo/Imagem</b>	3,54	3,42	3,54	3,46
<b>Preferência</b>	79%	21%	17%	83%

**De todos os vinhos provados, compraria algum? Qual?**

	<b>Percentagem</b>
<b>VBR</b>	42%
<b>VB DOC</b>	13%
<b>VTR</b>	4%
<b>VT DOC</b>	25%
<b>Nenhum</b>	17%