

**Contributo para o estudo da influência da Nanofiltração na
razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do vinho**

Cíntia Alexandra Antunes Moreira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Química

Orientadores:

Professora/Doutora Maria Norberta Neves Correia de Pinho
(Professora Catedrática, IST-UL)

Professora/Doutora Sofia Cristina Gomes Catarino
(Professora Auxiliar Convidada, ISA-UL)

Júri

Presidente: Professor/Doutor Carlos Manuel Faria de Barros Henriques
(Professor Associado, IST-UL)

Orientador: Professora/Doutora Sofia Cristina Gomes Catarino
(Professora Auxiliar Convidada, ISA-UL)

Vogal: Doutora Ilda Maria Justino Caldeira
(Investigadora Auxiliar, INIAV)

Dezembro 2015

AGRADECIMENTOS

Começo por agradecer aos meus pais todo o apoio que me deram desde sempre, que tornou possível a concretização desta etapa. Agradeço também às minhas irmãs pela companhia e por todos os momentos de distração que me proporcionaram em tantas tardes de escrita. Agradeço ainda ao Francisco por estar sempre presente e disponível para me ouvir.

À Professora Doutora Sofia Catarino e à Professora Doutora Maria Norberta de Pinho um especial agradecimento pela orientação, pelo tempo dedicado a este trabalho e pelos conselhos e opiniões partilhados, para que nenhum pormenor fosse esquecido.

Às empresas *José Maria da Fonseca Vinhos, Companhia Agrícola do Sanguinhal Lda e Sogrape Vinhos* pelo fornecimento dos vinhos essenciais à realização desta dissertação.

À Eng. Sofia Figueiredo por todas as sugestões dadas e pelo apoio prestado no Laboratório de Membranas do IST. Também às minhas colegas deste mesmo laboratório, Sofia Cabral e Beatriz Azevedo, pelas conversas e pelo bom ambiente de trabalho que me proporcionaram durante a realização deste trabalho. Ao Stefan Beisl pela sua companhia e partilha de conhecimento ao longo destes meses.

Ao Doutor Miguel Minhalma e ao Professor Doutor Vitor Geraldês pelo auxílio na montagem/funcionamento da instalação de nanofiltração e também pela disponibilidade no esclarecimento de dúvidas.

À Diana e ao Daniel pelo tempo dispendido, apoio e partilha de conhecimentos durante a minha presença no Laboratório Ferreira-Lapa do ISA.

À D. Otília por todo o auxílio prestado no laboratório do INIAV e pela motivação dada ao longo da realização deste trabalho. À Sara Cruz pela simpatia, boa disposição e companhia durante a minha passagem por este laboratório.

Por último, mas não menos importantes, à Bárbara Barata e à Beatriz Freitas pelos bons momentos que me proporcionaram, pelos desabafos mútuos, pelas sugestões e troca de ideias, enfim, pela amizade, pelo apoio, por estarem presentes.

RESUMO

A importância da origem geográfica do vinho justifica os esforços aplicados no desenvolvimento de ferramentas para avaliação da sua autenticidade. A razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do vinho, por correlação com o solo, tem demonstrado um elevado potencial como marcador de origem geográfica. A aplicação deste marcador para fins de autenticação de vinhos obriga à avaliação da sua robustez relativamente aos processos tecnológicos utilizados em Enologia, entre os quais, a nanofiltração (NF). O objectivo principal deste estudo é avaliar a influência da NF na $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do vinho.

Para tal, efectuaram-se ensaios de NF (modo de recirculação), inicialmente com soluções modelo, seguidamente com vinhos (brancos e tintos) das DOP Palmela, Óbidos e Dão, utilizando-se uma membrana de acetato de celulose preparada e caracterizada para o efeito [permeabilidade hidráulica $0,313 \text{ kg}/(\text{h} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{bar})$].

Nos ensaios com soluções modelo, observaram-se elevadas rejeições ao Sr (97%) e ao ácido tartárico (>70%) a 15 bar e uma reduzida rejeição ao etanol (<30%, 6 bar; <10%, 15 bar).

Os vinhos e as fracções de NF (17 bar; 2,1 L/min) foram avaliados em termos de composição físico-química, composição mineral e razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Para a generalidade dos parâmetros observaram-se alterações (antocianinas totais e polissacáridos totais, p.e.), explicadas pelo efeito de concentração. Como esperado, o etanol foi preferencialmente permeado. As rejeições ao Rb e ao Sr foram em geral superiores a 95%. Nas condições experimentais ensaiadas, a razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ não sofreu alterações estatisticamente significativas, indicando que a NF não é factor limitativo para a utilização deste marcador na avaliação da origem geográfica do vinho.

Palavras-chave: vinho, nanofiltração, autenticidade, origem geográfica, razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

ABSTRACT

The importance of wine geographical origin justified the efforts applied on the development of tools for evaluation of its authenticity. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio of wine, through correlation with soil, has demonstrated a high potential as geographical origin marker. The application of this marker in order to wine authentication imposes the evaluation of its robustness relatively to technological processes used in Enology, among which, nanofiltration (NF). The main goal of this study is to evaluate NF influence on $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotopic ratio of wine.

Thus, NF essays (recirculation mode) were carried out, at a first stage with model solutions and at a second stage with wines (white and red) from DO Palmela, Óbidos and Dão, using a cellulose acetate membrane prepared and characterized for this purpose [hydraulic permeability of 0,313 kg/(h.m².bar)].

Regarding model solutions essays, high rejections to strontium (97%) and tartaric acid (>70%) at 15 bar and a low rejection to ethanol (<30%, 6 bar; <10%, 15 bar) were observed.

Wines and NF fractions (17 bar; 2,1 L/min) were evaluated in terms of physico-chemical composition, mineral composition and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ratio. For the generality of the parameters, the observed changes are explained by concentration effect (total anthocyanins and total polysaccharides, for example). As expected, ethanol was preferentially permeated. Rejections to Rb and Sr were mostly higher than 95%. In the experimental conditions used, no statistically significant changes in $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotopic ratio were observed, indicating that NF is not a limitative factor for the use of this marker in evaluation of wine geographical origin.

Keywords: wine, nanofiltration, authenticity, geographical origin, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotopic ratio

O trabalho experimental apresentado nesta dissertação foi desenvolvido nos seguintes laboratórios: Laboratório de Membranas do Instituto Superior Técnico, Lisboa (ensaio de nanofiltração); Laboratório Ferreira-Lapa do Instituto Superior de Agronomia, Lisboa (caracterização físico-química dos vinhos e fracções de nanofiltração) e Laboratório de Enologia (Sector de Análise Mineral) do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Dois Portos (determinação da composição mineral e da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ nos vinhos e fracções de nanofiltração).

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	1
I.1. OBJECTIVOS.....	2
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E ENQUADRAMENTO	3
II.1. O VINHO	3
II.1.1. COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO VINHO	3
II.1.1.1. Ácidos orgânicos	4
II.1.1.2. Composição mineral.....	5
II.1.1.2.1. Estrôncio.....	6
II.1.1.3. Compostos azotados.....	6
II.1.1.4. Polissacáridos	7
II.1.1.5. Polifenóis	8
II.1.1.6. Constituintes Voláteis	8
II.1.2. AUTENTICIDADE DO VINHO	9
II.1.2.1. Origem Geográfica	10
II.1.2.1.1. Marcadores de Origem Geográfica	11
II.1.2.1.1.1. Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	12
II.2. PROCESSOS DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS	15
II.2.1. TIPOS DE PROCESSOS DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS	15
II.2.1.1. Nanofiltração	17
II.2.2. TIPOS DE MEMBRANAS	17
II.2.2.1. Preparação da membrana.....	18
II.2.3. TIPOS DE MÓDULOS DE MEMBRANAS	18
II.2.4. CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA DE NANOFILTRAÇÃO	20
II.2.5. MODELOS DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA	20
II.2.5.1. Polarização de Concentração	20
II.2.5.2. Modelo do Filme	21
II.2.5.3. Modelo Osmótico.....	22
II.2.5.4. Modelo das Resistências em Série	23
II.3. APLICAÇÕES DE PROCESSOS DE MEMBRANAS NA INDÚSTRIA DO VINHO	23
II.4. INFLUÊNCIA DOS PROCESSOS DE MEMBRANAS NA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO VINHO	25
II.4.1. INFLUÊNCIA DOS PROCESSOS DE MEMBRANAS NA RAZÃO ISOTÓPICA $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ DO VINHO	26
III. MATERIAIS E MÉTODOS	27
III.1. VINHOS	27
III.1.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA GERAL DOS VINHOS	27
III.1.2. POLISSACÁRIDOS TOTAIS	28
III.1.3. CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS, ANTOCIANINAS TOTAIS E ÍNDICE DE FENÓIS TOTAIS	29
III.1.4. COMPOSIÇÃO MINERAL	29
III.1.5. RAZÃO ISOTÓPICA $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	30
III.1.5.1. Preparação das amostras para a determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	30
III.1.5.2. Determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	32
III.2. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA DE NANOFILTRAÇÃO	34
III.2.1. PREPARAÇÃO DA MEMBRANA	34

III.2.1.1. Material.....	34
III.2.2. CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA	34
III.2.2.1. Permeabilidade hidráulica	35
III.2.2.2. Rejeição a solutos de referência	35
III.2.3. PARÂMETROS ANALÍTICOS	35
III.2.3.1. Condutividade.....	35
III.2.3.2. Carbono orgânico total	36
III.3. DESCRIÇÃO DA INSTALAÇÃO DE NANOFILTRAÇÃO	36
III.4. ENSAIOS DE NANOFILTRAÇÃO.....	37
III.5. MODO DE OPERAÇÃO E RECOLHA DE AMOSTRAS	38
III.5.1. SOLUÇÕES-MODELO.....	38
III.5.1.1. Soluções hidroalcoólicas	38
III.5.1.2. Soluções quaternárias.....	38
III.5.2. VINHOS	39
III.6. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS	39
III.6.1. RAZÃO ISOTÓPICA $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	39
<u>IV. RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÃO</u>	<u>40</u>
IV.1. CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA DE NANOFILTRAÇÃO.....	40
IV.1.1. PERMEABILIDADE HIDRÁULICA	40
IV.1.2. REJEIÇÃO A SOLUTOS DE REFERÊNCIA.....	40
IV.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA GERAL DOS VINHOS	41
IV.2.1. POLISSACÁRIDOS TOTAIS.....	41
IV.2.2. CARACTERÍSTICAS CROMÁTICAS, ANTOCIANINAS TOTAIS E ÍNDICE DE FENÓIS TOTAIS.....	42
IV.2.3. COMPOSIÇÃO MINERAL.....	42
IV.2.4. RAZÃO ISOTÓPICA $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	46
IV.3. ENSAIOS DE NANOFILTRAÇÃO	48
IV.3.1. SOLUÇÕES-MODELO	48
IV.3.1.1. Soluções hidroalcoólicas	48
IV.3.1.2. Soluções quaternárias	50
IV.3.2. VINHOS.....	51
IV.3.2.1. Fluxos de Permeação	51
IV.3.2.2. Caracterização físico-química geral.....	52
IV.3.2.2.1. Polissacáridos Totais	55
IV.3.2.2.2. Características cromáticas, antocianinas totais e índice de fenóis totais	56
IV.3.2.2.3. Composição Mineral	58
IV.3.2.2.4. Composição Isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	65
<u>V. CONCLUSÕES.....</u>	<u>68</u>
<u>VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	<u>70</u>
<u>VII. DIVULGAÇÃO DO CONHECIMENTO.....</u>	<u>79</u>
<u>VIII. ANEXOS</u>	<u>80</u>
ANEXO 1 – VOLUMES DE EDTA 0,1 M (PH 7,0) ADICIONADOS ÀS AMOSTRAS DIGERIDAS	80
ANEXO 2 – RECTAS DE CALIBRAÇÃO DOS SOLUTOS DE REFERÊNCIA.....	81
ANEXO 3 – ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS RAZÕES ISOTÓPICAS $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ DE VINHOS E FRACÇÕES DE NANOFILTRAÇÃO.....	83

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Principais constituintes do vinho.	3
Tabela 2 – Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em rochas, solos, uvas e mostos.	13
Tabela 3 – Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em vinhos.	14
Tabela 4 – Características das membranas de microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa.	16
Tabela 5 – Características dos diferentes tipos de módulos de membranas.	20
Tabela 6 – Características dos vinhos e dos processos aplicados.	27
Tabela 7 – Condições operatórias do equipamento de ICP-MS.	29
Tabela 8 – Parâmetros instrumentais do equipamento de ICP-MS na análise da composição mineral.	30
Tabela 9 – Programa de forno utilizado na digestão das amostras por HPMW.	31
Tabela 10 – Parâmetros instrumentais do equipamento de ICP-MS na análise da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$.	32
Tabela 11 – Coeficientes de rejeição aparente para os solutos de referência.	40
Tabela 12 – Características físico-químicas dos vinhos.	41
Tabela 13 – Concentração em polissacáridos totais nos vinhos.	41
Tabela 14 – Características cromáticas, antocianinas totais, índice de fenóis totais nos vinhos.	42
Tabela 15 – Composição mineral dos vinhos (LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação; * – Resultado não obtido).	43
Tabela 16 – Composição mineral dos vinhos (LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação; * – Resultado não obtido) – continuação.	44
Tabela 17 – Razão $[\text{Rb}]/[\text{Sr}]$ e razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ nas amostras de vinhos após separação cromatográfica de Rb e Sr.	47
Tabela 18 – Caracterização físico-química geral das fracções de nanofiltração dos vinhos brancos (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; ND – Não detectado).	53
Tabela 19 – Caracterização físico-química geral das fracções de nanofiltração dos vinhos tintos (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; ND – Não detectado).	53
Tabela 20 – Caracterização físico-química geral da alimentação final dos vinhos, caso se adicionasse a água retirada no permeado (ND – Não detectado).	55
Tabela 21 – Concentração em polissacáridos totais no permeado, na alimentação inicial e na alimentação final de cada vinho (LD = 4,5 mg/L e LQ = 19 mg/L).	55
Tabela 22 – Coeficientes de rejeição aos polissacáridos totais.	56
Tabela 23 – Concentração em polissacáridos totais na alimentação final, caso se adicionasse a água retirada no permeado.	56
Tabela 24 – Intensidade da cor das fracções de nanofiltração dos vinhos.	57
Tabela 25 – Tonalidade da cor das fracções de nanofiltração dos vinhos.	57
Tabela 26 – Concentração em antocianinas totais nas fracções de nanofiltração dos vinhos e respectivos coeficientes de rejeição.	57
Tabela 27 – Concentração em antocianinas totais na alimentação final, caso se adicionasse a água retirada no permeado.	58
Tabela 28 – Índice de fenóis totais nas fracções de nanofiltração dos vinhos.	58
Tabela 29 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho branco da DOP Óbidos (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).	59
Tabela 30 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho branco da DOP Palmela (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).	60
Tabela 31 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho branco da DOP Dão (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).	61

Tabela 32 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho tinto da DOP Óbidos (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).	62
Tabela 33 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho tinto da DOP Palmela (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).	63
Tabela 34 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho tinto da DOP Dão (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).	64
Tabela 35 – Coeficientes de rejeição ao Rb e ao Sr.	65
Tabela 36 – Razão [Rb]/[Sr] e razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ nas fracções de nanofiltração após separação cromatográfica de Rb e Sr (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; * - valor não obtido).	66
Tabela 37 – Volumes de EDTA 0,1 M (pH 7,0) adicionados às amostras e volumes finais das amostras diluídas (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado).	80
Tabela 38 – Teste LSD e p-values das razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dos vinhos.	83
Tabela 39 – Teste LSD e p-values das razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das fracções de nanofiltração.	83
Tabela 40 – Teste LSD e p-values das razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das fracções de nanofiltração – continuação.	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática do funcionamento de uma membrana semi-permeável.	15
Figura 2 – Representação dos processos mais adequados à separação de cada soluto.	16
Figura 3 – Esquema de um módulo tubular.	19
Figura 4 – Esquema de um módulo de pratos planos.	19
Figura 5 – Esquema de um módulo enrolado em espiral.	19
Figura 6 – Esquema de um módulo de fibras ocas.	20
Figura 7 – Representação do perfil de concentrações na fase líquida adjacente à membrana em estado estacionário.	21
Figura 8 – Esquema do procedimento de preparação de amostras para determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ por ICP-MS.	33
Figura 9 – Instalação de nanofiltração <i>Celfa P-28</i> .	36
Figura 10 – Representação esquemática da instalação de nanofiltração <i>Celfa P-28</i> .	37
Figura 11 – Representação do fluxo de permeado de água desionizada (J_p) em função da pressão (ΔP).	40
Figura 12 – Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dos vinhos.	48
Figura 13 – Fluxos de permeado em função da concentração de etanol na alimentação, obtidos pela permeação de soluções hidroalcoólicas a 6 e 15 bar.	49
Figura 14 – Coeficientes de rejeição (f) em função da concentração de etanol na alimentação, obtidos pela permeação de soluções hidroalcoólicas a 6 bar.	49
Figura 15 – Coeficientes de rejeição (f) em função da concentração de etanol na alimentação, obtidos pela permeação de soluções hidroalcoólicas a 15 bar.	49
Figura 16 – Fluxos de permeado em função da concentração de etanol em soluções-modelo hidroalcoólicas e quaternárias, obtidos pela permeação das soluções a 15 bar (Soluções-modelo hidroalcoólicas: soluções aquosas com 8, 10, 12, 14 e 16%(v/v) em etanol; Soluções-modelo quaternárias: soluções aquosas com 9, 12 e 16%(v/v) em etanol, 0,5 mg/L de Sr, 3 g/L de ácido tartárico e pH de 3,5).	50
Figura 17 – Coeficientes de rejeição (f) ao etanol, ácido tartárico e Sr em função da concentração de etanol na alimentação, obtidos pela permeação de soluções-modelo quaternárias a 15 bar (Soluções-modelo quaternárias: soluções aquosas com 9, 12 e 16%(v/v) em etanol; 0,5 mg/L de Sr; 3 g/L de ácido tartárico e pH de 3,5).	51
Figura 18 – Fluxos de permeado correspondentes à nanofiltração de cada vinho.	51
Figura 19 – Razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das fracções de nanofiltração (A.I. – alimentação inicial; A.F. – alimentação final).	67
Figura 20 – Recta de calibração do cloreto de sódio.	81
Figura 21 – Recta de calibração do sulfato de sódio.	81
Figura 22 – Recta de calibração do sulfato de cálcio.	81
Figura 23 – Recta de calibração da glucose.	82

NOMENCLATURA

ADN – Ácido desoxirribonucleico
AGP – Arabinogalactanoproteínas
 A_i – Constantes viriais
 C_A – Concentração do soluto A
 C_{Ab} – Concentração de soluto na alimentação
 C_{Am} – Concentração de soluto à superfície da membrana
 C_{Ap} – Concentração de soluto no permeado
COT – Carbono Orgânico Total
 D_{AB} – Difusividade do soluto A em solução a diluição infinita
DOP – Denominação de Origem Protegida
 f_A – Coeficiente de rejeição aparente
 f_A' – Coeficiente de rejeição intrínseca
FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
ICP-MS – Espectrometria de Massa Acoplada a Plasma Indutivo
IGP – Indicação Geográfica Protegida
 J_p – Fluxo de permeação
LD – Limite de detecção
 L_p – Permeabilidade hidráulica
LQ – Limite de quantificação
LSD – *Fisher Least Significant Difference*
MF – Microfiltração
MWCO – Limite de exclusão molecular da membrana
NF – Nanofiltração
OI – Osmose Inversa
OIV – *International Organisation of Vine and Wine*
PM – Massa Molecular do soluto
PTFE – Politetrafluoroetileno
R – Constante dos gases perfeitos
RG – Ramnogalacturunas
RG I – Ramnogalacturunas do tipo I
RG II – Ramnogalacturunas do tipo II
RGII-B – RGII que estão ligadas covalentemente através da ligação diéster-borato
 R_a – Resistência correspondente a fenômenos de colmatação
 R_g – Resistência relativa à formação do gel
 R_m – Resistência intrínseca da membrana
 R_{pc} – Resistência devida à camada de polarização de concentração
TIMS – Espectrometria de Massa de Ionização Térmica
UF – Ultrafiltração
 x – Distância à superfície da membrana

LETRAS GREGAS

δ – Espessura de uma camada sub-laminar

ΔP – Pressão transmembranar

π_m – Pressão osmótica à superfície da membrana

π_p – Pressão osmótica no permeado

μ – Viscosidade da solução

I. INTRODUÇÃO

Actualmente, observa-se uma maior preocupação por parte dos consumidores com a origem e qualidade de produtos alimentares. No sector vitivinícola, a origem apresenta particular importância visto reflectir-se no valor comercial do produto. A autenticidade dos vinhos em termos de origem geográfica, ano de colheita/idade, variedade(s) de uva e práticas enológicas tem vindo a ser estudada, com vista ao desenvolvimento de ferramentas que permitam a autenticação/detecção de fraudes.

A nível europeu os vinhos podem ser certificados como Denominação de Origem Protegida (DOP) ou Indicação Geográfica Protegida (IGP), tornando-se essencial a verificação da sua origem geográfica. Com vista à avaliação da origem geográfica dos vinhos, têm sido efectuados diversos estudos baseados na sua composição físico-química. De entre os vários constituintes do vinho, como compostos voláteis, ácidos orgânicos, elementos minerais, glúcidos, compostos azotados, compostos fenólicos, entre outros, os elementos minerais são os mais promissores como marcadores de origem geográfica. A avaliação da composição multielementar é uma das estratégias de verificação de origem geográfica do vinho, nomeadamente através da comparação do seu perfil mineral com o do solo. Apesar de presentes em baixas concentrações nos vinhos, a maioria destes elementos relaciona-se directamente com o solo, não sendo degradados durante o processamento do vinho.

Recentemente, a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ tem sido estudada neste sentido, tendo-se revelado um forte candidato a marcador de origem geográfica de vinhos (Catarino *et al.*, 2012). Esta razão isotópica tem tido principal aplicação na datação e determinação da origem geográfica de rochas e minerais. Uma relação entre a DOP e a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em solos desenvolvidos sobre diferentes formações rochosas foi já identificada, confirmando a viabilidade desta ferramenta como marcador de origem geográfica (Martins, 2012; Martins *et al.*, 2014). É ainda necessário assegurar que existe uma relação entre o solo, as plantas e o vinho. Como tal, esta razão isotópica não deverá sofrer alterações significativas durante o processamento do vinho. Surge a necessidade de avaliar a robustez deste método quanto aos processos de vinificação, entre os quais a nanofiltração, pois a eventual alteração da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em vinhos tratados por esta tecnologia, pode invalidar a sua utilização como marcador de origem geográfica.

Na área vitivinícola, a nanofiltração tem sido estudada para desalcoholização de vinhos, concentração de vinhos e de mostos e rectificação de mostos. Este tipo de processos diferencia-se dos processos tradicionais de filtração por ocorrer sob pressão e a alimentação ser feita tangencialmente ao meio filtrante. O meio filtrante utilizado designa-se por membrana, isto é, uma barreira selectiva cujas interacções entre esta e a solução a permear dependem do material de que é feita e da estrutura que apresenta. A alimentação é dividida em duas correntes: o permeado, que corresponde à corrente que permeia preferencialmente através da membrana, e o concentrado, que é a corrente que contém os compostos rejeitados por esta. A principal vantagem dos processos com membranas é a sua selectividade que permite a eliminação apenas das substâncias pretendidas.

As membranas de nanofiltração, em particular, apresentam boa permeabilidade ao etanol e elevados coeficientes de rejeição a compostos de maior massa molecular como polissacáridos e

polifenóis. Relativamente ao Sr, que está presente no vinho sob a forma de sais ou no complexo com as RGII, não há conhecimento da sua rejeição.

Considerando a aplicação deste elemento na verificação da autenticidade dos vinhos em termos de origem geográfica e a utilização da nanofiltração no sector vitivinícola, o estudo da influência desta operação na composição mineral e na razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do vinho assume importância.

I.1. Objectivos

O objectivo deste trabalho é estudar a influência da nanofiltração, tendo em conta as suas características de permeação selectiva, na razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do vinho.

De modo mais específico, os objectivos desta tese consistem na avaliação da repartição do Sr nas correntes de nanofiltração, concentrado e permeado; na avaliação da composição físico-química dos vinhos e particularmente da razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ nas correntes resultantes da nanofiltração.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E ENQUADRAMENTO

II.1. O vinho

II.1.1. Composição físico-química do vinho

O vinho é definido como “o produto obtido exclusivamente por fermentação alcoólica, total ou parcial, de uvas frescas, esmagadas ou não, ou de mostos de uvas” (Reg. (CE) Nº 479/2008, do Conselho, de 29 de Abril de 2008). Consiste então numa solução complexa de espécies químicas, em solução verdadeira ou em solução coloidal conforme a sua dimensão, maioritariamente provenientes das uvas ou produzidos durante a fermentação. Na **tabela 1** encontram-se os principais constituintes do vinho e a gama de concentrações em que se encontram.

Tabela 1 – Principais constituintes do vinho.

Composto		Massa Molecular (Da)	Concentração (g/L)	Referências	
Etanol		46	60 – 130	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)	
Glicerol		92	5 – 20	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)	
Ácidos orgânicos	Ácido tartárico		150	2 – 5	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)
	Ácido láctico		90	1 – 5	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)
	Ácido málico		134	0 – 5	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)
	Ácido succínico		118	0,5 – 1,5	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)
	Ácido cítrico		192	0 – 0,5	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)
Sais minerais ¹	Catiões	Potássio	39	0,5 – 2	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
		Magnésio	24	0,06 – 0,15	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
		Cálcio	40	0,08 – 0,14	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
		Sódio	23	0,01 – 0,04	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
	Aniões	Sulfato	96	0,1 – 2	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
		Cloreto	35	0,5 – 1	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
		Fosfato	95	0,07 – 1	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
Compostos azotados		---	0,07 – 0,7	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)	
Polissacáridos		50 000 – 200 000	0,2 – 2	(Lipnizki, 2010; Pellerin e Cabanis, 1998)	

¹ Os iões referidos combinam-se entre si e com outras espécies químicas estando presentes no vinho na forma de complexos orgânicos e inorgânicos, com uma massa molecular superior à apresentada.

Polifenóis	Taninos	600 – 3 500	0,1 – 4	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
	Antocianinas	500 – 2000	0 – 1,5	(Lipnizki, 2010; Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
Aromas	Álcoois superiores	---	0,001 – 0,003	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)
	Ésteres	---	0,002 – 0,010 ²	(Ribéreau-Gayon <i>et al.</i> , 2006)
	Acetaldeído	44	0,03 – 0,2	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)
	Ácido acético	60	0,5 – 1	(Ribéreau-Gayon e Peynaud, 1947)

O principal constituinte do vinho é a água que representa entre 85 e 90% do seu volume (vinhos não fortificados). O etanol é o segundo maior constituinte, sendo produzido durante a fermentação alcoólica dos açúcares dos mostos. Este composto destaca-se não só pelos teores em que se encontra mas também pela influência directa ou indirecta que exerce nas características organolépticas do vinho, pelo seu papel na conservação deste produto e, ainda, pela relação entre o teor em que se encontra no vinho com o valor comercial do mesmo.

O glicerol é o terceiro maior constituinte do vinho, também produzido durante a fermentação alcoólica. A quantidade de glicerol formada depende do teor de açúcares do mosto, das espécies de leveduras e do arejamento, temperatura, acidez e presença de dióxido de enxofre durante a fermentação (Curvelo-Garcia, 1988).

II.1.1.1. Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são os responsáveis pelo pH do vinho, condicionando a actividade dos microorganismos durante a vinificação e a posterior evolução do vinho. O conjunto de ácidos orgânicos é variado em termos de teores, força ácida, natureza química e influência nas características organolépticas do vinho. O ácido tartárico é característico da uva, sendo rara a sua presença noutras espécies vegetais. Este ácido destaca-se não só pelas concentrações em que se encontra mas também pelas suas características químicas e organolépticas, visto ser o ácido orgânico mais forte e mais dissociado, sendo também o mais resistente às acções bacterianas.

O ácido málico, também proveniente das uvas, é um ácido mais vulgar nas espécies vegetais. A sua importância deve-se à desacidificação do vinho e à alteração das suas características organolépticas ácidas resultantes da fermentação maloláctica. Nos vinhos em que ocorre fermentação maloláctica, este ácido é transformado em ácido láctico. O ácido láctico presente no vinho provém principalmente do ácido málico, contudo pode também ser formado durante a fermentação alcoólica em reduzida quantidade. O ácido succínico é produzido durante a fermentação alcoólica, sendo também um elemento caracterizador da qualidade dos vinhos. Este ácido caracteriza-se pelo gosto ácido intenso e por uma mistura de sabores amargo e salgado. Por fim, o ácido cítrico provém das uvas encontrando-se em elevados teores nos mostos mas baixos nos

² Esta gama de valores está apresentada em eq/L.

vinhos. Este ácido distingue-se pelas suas propriedades organolépticas (carácter frutado e de frescura) e complexantes (Curvelo-Garcia, 1988).

II.1.1.2. Composição mineral

Os sais minerais presentes no vinho têm principal origem na uva contudo algumas operações tecnológicas podem provocar pequenas alterações na sua composição. O potássio é o catião metálico maioritário, tanto nos mostos como nos vinhos. Depois do potássio, o magnésio é o catião com maior teor nos vinhos, existindo na forma de sais com elevada solubilidade no meio (Curvelo-Garcia, 1988). É de referir que nos vinhos tintos, o teor de cálcio poderá assumir valores mais elevados que os referidos na **tabela 1**. O teor de sódio nos vinhos poderá também ser superior ao apresentado em regiões próximas do mar (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

Estes elementos podem classificar-se de acordo com as concentrações em que se encontram no vinho. Os elementos com concentrações de 10 mg/L até 1000 mg/L, tais como Ca, K, Mg, Na, S, P e Cl são os elementos maioritários e são os responsáveis pela “estrutura metálica” dos vinhos e pela sua capacidade tampão ácido-base. Os elementos minoritários são os que apresentam concentrações entre 0,1 mg/L e 10 mg/L como Al, Mn, Fe, Cu, Zn, Rb e Sr. Elementos com concentrações inferiores a 100 µg/L correspondem aos elementos vestigiais como Li, V, Cr, Co, Ni, Ga, As, Se, Cs, Ba, Pb, I e F. Por fim, entre os elementos sub-vestigiais, que apresentam concentrações inferiores a 1 µg/L, encontram-se Be, Cd, Sb, W, Hg, Tl, Bi, U e lantanídeos (terras raras) (Catarino *et al.*, 2008a).

Consideram-se elementos contaminantes dos vinhos, o conjunto dos metais pesados (como Al) e alguns não metais (como As, Se, Sb e Be), excluindo os metais alcalinos e restantes alcalino-terrosos. Por norma, todos os catiões minerais estão presentes naturalmente nos mostos e nos vinhos em teores não tóxicos (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). A presença de metais pesados no vinho deve-se principalmente ao desenvolvimento da actividade industrial e da consequente poluição produzida. Durante o processo tecnológico de vinificação podem ainda ocorrer contaminações devido às práticas culturais, aos aditivos e auxiliares tecnológicos, aos equipamentos utilizados e aos processos de estabilização e conservação. Por outro lado, ao longo das fermentações alcoólica e maloláctica parte destes metais são eliminados por precipitação, sob a forma de sais orgânicos e/ou sulfuretos, e por absorção e adsorção por leveduras e bactérias (Catarino *et al.*, 2008a).

Por fim, refere-se que os elementos minerais se podem encontrar solubilizados nos mostos e vinhos sob a forma de sais orgânicos como tartaratos, malatos, succinatos e acetatos, de sais minerais como cloretos, sulfatos e fosfatos e de complexos orgânicos com outras espécies químicas. É de notar que a forma química em que o catião se encontra influencia consideravelmente a sua biodisponibilidade e toxicidade (Catarino *et al.*, 2008a).

II.1.1.2.1. Estrôncio

O Sr pode aparecer sob a forma de sais como o tartarato de estrôncio ou sob a forma de complexo com as RG II (Wisniak, 2013). A presença de Sr no vinho tem origem no solo, dependendo fortemente do tipo de formação rochosa sobre a qual este se desenvolveu. O seu teor pode ser afectado por contaminações relacionadas com o meio envolvente, condições climáticas e práticas agrícolas (Capo *et al.*, 1998). A adição de fertilizantes ao solo é uma nova fonte deste elemento, contribuindo para a variação da sua composição isotópica (Pearce *et al.*, 2015). A nutrição das plantas com recurso a aerossóis deve também ser considerada, visto que o aerossol de Sr poderá apresentar uma composição isotópica diferente da do solo (Horn *et al.*, 1993). Num estudo efectuado por Almeida e Vasconcelos (2004), verificou-se que a concentração em Sr aumenta durante a vinificação. Acrescenta-se que Catarino *et al.* (2006a) observaram o aumento da concentração em Sr apenas durante a vinificação de vinhos tintos. Este aumento pode ser explicado pela maceração das partes sólidas das uvas tintas, devendo-se o aumento do teor em Sr no vinho, à passagem deste elemento das películas para o mosto. Outra hipótese é a contaminação das uvas com o solo. A adição de bentonites é um dos processos que, por contaminação, pode também provocar o aumento da concentração em Sr (Jakubowski *et al.*, 1999; Catarino *et al.*, 2008b).

Na região de *Stellenbosch* (África do Sul), obtiveram-se concentrações em Sr nos vinhos entre 41 e 107 µg/L (Coetzee *et al.*, 2014). Pohl (2007) refere teores de Sr em vinhos provenientes da Áustria (400 – 460 µg/L), República Checa (340 – 530 µg/L), França (220 – 470 µg/L), Alemanha (120 – 1280 µg/L), Hungria (320 – 1190 µg/L), Itália (400 – 1160 µg/L), Portugal (570 – 850 µg/L), Eslováquia (130 – 3220 µg/L) e Espanha (280 – 1500 µg/L). A concentração em Sr foi avaliada em mostos e vinhos de diferentes regiões portuguesas, variando entre 36,7(0,9) e 383(3) µg/L em mostos e de 95(4) a 474(9) µg/L em vinhos (Catarino *et al.*, 2006a).

O teor em Sr foi determinado em dois vinhos de mesa (um branco e um tinto) pela técnica de ICP-MS por um método quantitativo e por um método semi-quantitativo, tendo-se obtido 243(6) µg/L e 239(3) µg/L para o vinho branco e 326(10) µg/L e 303(11) µg/L para o vinho tinto, respectivamente. Conclui-se que ambos os métodos são alternativas viáveis para a caracterização dos vinhos e sua comparação (Catarino *et al.*, 2006b).

Por fim, a concentração em Sr foi ainda determinada em solos das DOP Dão (34(3) µg/g), Óbidos (50(7) µg/g; 54(3) µg/g) e Palmela (52(7) µg/g) (Martins *et al.*, 2014).

II.1.1.3. Compostos azotados

Os compostos azotados estão presentes nas uvas, mostos e vinhos e adquirem um papel notável na vinificação, conservação e estabilização dos vinhos. O seu teor sofre alterações relevantes durante a vinificação devido, principalmente, à assimilação por parte das leveduras. Os compostos azotados nas uvas e mostos estão presentes maioritariamente sob forma orgânica, sendo também constituídos por azoto amoniacal (10%). Após fermentação alcoólica, o teor de azoto amoniacal é praticamente nulo. Nos vinhos onde ocorreu fermentação maloláctica, este teor pode ser superior

visto haver produção de azoto amoniacal por parte das bactérias lácticas. Os aminoácidos assumem também destaque pelo seu papel condicionante da fermentação alcoólica (Curvelo-Garcia, 1988).

As proteínas são macromoléculas com massas moleculares superiores a 10 000 Da. Estas macromoléculas são constituídas por cadeias de aminoácidos ligados por ligações peptídicas, sendo a estrutura tri-dimensional definida pela sequência de aminoácidos. A sua presença nos vinhos provém das uvas e das leveduras responsáveis pela fermentação alcoólica (Ferreira *et al.*, 2001). O teor em proteínas dos vinhos depende de diversos factores como a variedade, condições climáticas, solo, adubações, processo tecnológico de vinificação e da presença de outras substâncias como taninos e polissacáridos (Curvelo-Garcia, 1988).

Apesar das proteínas não serem compostos maioritários no vinho, a sua presença afecta a limpidez e estabilidade dos vinhos. Sob condições de armazenamento desfavoráveis, a coagulação de algumas proteínas presentes nos vinhos brancos pode ocorrer. Segue-se a precipitação destas proteínas desnaturadas e a formação de um sedimento amorfo que prejudica o aspecto visual dos vinhos, diminuindo drasticamente o seu valor comercial (Ferreira *et al.*, 2001).

II.1.1.4. Polissacáridos

Estes compostos são os responsáveis pelo “corpo” do vinho visto serem de elevada massa molecular. Os polissacáridos são polímeros constituídos por uma sequência de monossacáridos, que não são mais do que moléculas de açúcar. Estas macromoléculas encontram-se tanto em células animais como vegetais, estando presentes em sumos de frutas e derivados. Constituem, assim, o grupo mais importante da fracção coloidal dos vinhos (Curvelo-Garcia, 1988).

Entre os polissacáridos presentes no vinho destacam-se as manoproteínas, arabinogalactanoproteínas (AGP), arabinoses e ramnogalacturunas (RG). Enquanto que as AGP, arabinoses e RG têm origem nas pectinas presentes nas paredes celulares da uva, as manoproteínas são libertadas pelas leveduras durante a fermentação alcoólica (Pellerin *et al.*, 1995; Pellerin *et al.*, 1996; Dupin *et al.*, 2000).

As ramnogalacturunas dividem-se em tipo I (RGI) e tipo II (RGII), sendo que estas últimas aparecem mais frequentemente na forma de dímero do que na forma de monómero. O dímero referido, RGII-B, é formado por uma ligação diéster-borato e origina complexos com os metais pesados presentes no vinho como chumbo, bário ou estrôncio. Nos vinhos tintos, o RGII-B contém 0,8 a 1,1 mol/mol de B, 0,8 a 1,1 mol/mol de Ca, 0,1 a 1,3 mol/mol de Sr e 0,03 a 0,07 mol/mol de Ba (Matsunaga e Ishii, 2004). É de referir que os vinhos tintos apresentam entre 100 a 150 mg/L de RGII e os vinhos brancos apenas 20 a 30 mg/L de RGII, devido às diferentes tecnologias usadas no processamento dos vinhos³. Na produção de vinho tinto, ocorre maceração das partes sólidas da uva (películas e grânhas) durante a fermentação, sendo as massas vínicas prensadas no final. No caso do vinho branco, a prensagem das uvas ocorre geralmente antes da fermentação alcoólica, não existindo maceração das partes sólidas.

³ <http://www.ccruc.uga.edu/~mao/rg2/intro.htm> (Consultado em 30.06.2015)

II.1.1.5. Polifenóis

Os polifenóis são todos os compostos que apresentem um ou mais grupos fenólicos na sua estrutura. Estes polímeros têm bastante influência nas propriedades organolépticas do vinho, nomeadamente na intensidade e tonalidade da cor, nas características sápidas, de adstringência e dureza, no aroma, na estabilidade, na evolução e na maturação dos vinhos tintos durante o envelhecimento (Curvelo-Garcia, 1988).

Os compostos fenólicos podem ser divididos em flavonóides e não flavonóides. Aos compostos não flavonóides pertencem os ácidos fenólicos (benzóicos e cinâmicos) e outros derivados. Os principais ácidos fenólicos presentes na uva são os ácidos hidroxicinâmicos, responsáveis pela oxidação e respectivo escurecimento dos mostos e dos vinhos. Estes ácidos, derivados do ácido cinâmico, combinam-se com o ácido tartárico, encontrando-se na forma de monoésteres. Refere-se ainda a presença de outros ácidos cinâmicos como o ácido ferrúlico, o ácido p-cumárico e o ácido cafeíco. Entre os ácidos benzóicos que se encontram no vinho, destacam-se os ácidos vanílico, siríngico e salicílico, que aparecem ligados às paredes celulares, e o ácido gálico, que se apresenta sob a forma de éster dos flavonóis (Cabrita *et al.*, 1999).

Os compostos flavonóides incluem flavonóis, 3-flavanóis e antocianinas. Apesar de os flavonóis serem constituintes minoritários das uvas, adquirem um papel importante na evolução da cor dos vinhos tintos por processos de co-pigmentação com as antocianinas. Os 3-flavanóis podem encontrar-se sob as formas monomérica, oligomérica e polimérica, correspondendo as duas últimas formas aos taninos condensados (com origem na uva). Os 3-flavanóis (forma monomérica) mais comuns na uva e nos vinhos são a (+)-catequina e a (-)-epicatequina. Os taninos assumem importância nas características organolépticas do vinho. Para além de proporcionarem uma sensação de adstringência, são fundamentais na evolução da cor do vinho visto que, com o passar do tempo, polimerizam entre si e com as antocianinas, atribuindo a coloração característica dos vinhos velhos. Os compostos responsáveis pelo pigmento vermelho das uvas e, consequentemente, do vinho são as antocianinas (Cabrita *et al.*, 1999).

II.1.1.6. Constituintes Voláteis

O aroma corresponde a uma das características organolépticas de maior importância na qualidade do vinho. Enquanto que nos vinhos novos o aroma se deve principalmente aos compostos voláteis provenientes da uva e da vinificação, nos vinhos velhos o aroma é determinado pelos compostos voláteis resultantes dos processos de maturação e envelhecimento. Tendo em conta esta evolução, o aroma pode dividir-se em aroma varietal, aroma pré-fermentativo, aroma fermentativo e aroma pós-fermentativo.

O aroma varietal é proveniente da uva, dependendo da casta e de factores como o solo e o clima.

Os compostos voláteis resultantes das operações tecnológicas e tratamentos que decorrem entre a colheita da uva e o início da fermentação alcoólica constituem o aroma pré-fermentativo. Antes da fermentação alcoólica, os compostos responsáveis pelo aroma são aldeídos e alcoóis em

C₆, metanol, terpenóis e alcoóis aromáticos e derivados aromáticos. Os alcoóis em C₆ são obtidos por fenómenos bioquímicos resultantes de acção enzimática, sendo o seu teor dependente da maturação das uvas e das operações tecnológicas. O metanol é produzido pela acção de enzimas pectolíticas sobre pectinas, não sendo relevante a nível organoléptico mas pela sua elevada toxicidade. Os terpenóis e alcoóis aromáticos resultam de heterósidos e polióis, enquanto que os derivados aromáticos são obtidos a partir de aminoácidos aromáticos.

O aroma fermentativo é constituído pelos compostos produzidos durante as fermentações alcoólica e maloláctica, tais como alcoóis superiores (>C₂), ácidos voláteis (como o ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico e ácidos C₆, C₈ e C₁₀), ésteres (como o acetato de etilo), compostos carbonilados, sulfurados e azotados, lactonas e fenóis voláteis. Os principais alcoóis superiores presentes no vinho, com teores frequentemente superiores a 50 mg/L, são o 2-metil-1-propanol, o 3-metil-1-butanol, o 2-metil-1-butanol e o 2-fenil-etanol.

Durante a conservação do vinho, os compostos voláteis produzidos e/ou transformados por reacções físico-químicas ou enzimáticas representam o aroma pós-fermentativo. Nesta etapa, o aroma frutado dos vinhos jovens evolui para um aroma mais complexo, dependendo das condições de armazenamento, nomeadamente do tipo de recipiente (depósito em inox, madeira, garrafa) (Curvelo-Garcia, 1988; Catarino, 2015).

II.1.2. Autenticidade do vinho

Ao longo dos últimos anos, tem-se verificado uma crescente preocupação com a origem e qualidade de produtos alimentares. Tendo em conta que o valor comercial do vinho é influenciado por diversos factores, entre eles a origem, este é um dos produtos mais estudados no que diz respeito à sua autenticidade. A certificação dos vinhos/prevenção de fraudes através da sua composição físico-química é um objectivo do sector vitivinícola. A autenticidade dos vinhos pode ser avaliada em termos de espécie botânica, variedade(s) de uva, ano de colheita/idade, práticas enológicas e origem geográfica.

A(s) variedade(s) das uvas utilizadas na produção de vinho é um dos factores determinantes da qualidade do produto obtido. Entre as variedades disponíveis para a produção de vinhos certificados, a sua utilização está limitada à DOP onde está inserida a vinha. Sendo assim, a determinação da composição varietal de um vinho toma importância para produtores, consumidores e organismos reguladores. Com vista à determinação da(s) variedade(s) da uva, têm sido estudados diversos métodos baseados na composição físico-química do vinho. Nomeadamente, a partir da avaliação dos perfis aminoacídico e proteico (Bouloumpasi *et al.*, 2002; Soufleros *et al.*, 2003), polifenólico (De Villiers *et al.*, 2004; González-Neves *et al.*, 2004; Mardones *et al.*, 2005; Makris *et al.*, 2006; von Baer *et al.*, 2008) e de compostos voláteis (Oliveira *et al.*, 2004; Nasi *et al.*, 2008; Pérez-Magariño *et al.*, 2015). Uma alternativa para a determinação da(s) casta(s) é a análise ao ADN residual da uva (Faria *et al.*, 2000; García-Beneytez *et al.*, 2002; Siret *et al.*, 2002; Baleiras-Couto e Eiras-Dias, 2006; Fernandes *et al.*, 2015;).

Com o passar do tempo, a composição físico-química do vinho sofre alterações que podem ou não aumentar o seu valor comercial. De modo a estimar a idade do vinho, estudou-se um método baseado na radioactividade do isótopo ^{14}C das moléculas de etanol, contudo a sua sensibilidade não foi suficiente para o efeito. No caso dos vinhos tintos, estudou-se a utilização de este método em conjunto com a análise aos compostos polifenólicos, visto a cor ser um parâmetro indicador da idade do vinho. Outro método estudado, consiste na determinação da radioactividade de isótopos presentes no vinho como ^{210}Pb , ^{210}Po , ^{239}Pu , ^{240}Pu e ^{13}Cs (Palade e Popa, 2014).

Entre as inúmeras práticas enológicas existentes, apenas as presentes no *Código Internacional de Práticas Enológicas* (OIV, 2015) são internacionalmente permitidas. A autenticidade dos vinhos em termos da tecnologia aplicada assume maior importância no caso de espumantes, de vinhos que envelhecem em ambiente oxidativo ou de vinhos rosés. Nos espumantes, o principal objectivo é determinar se o dióxido de carbono presente é endógeno ou exógeno (Martinelli *et al.*, 2003). No caso dos vinhos que envelhecem em ambiente oxidativo como alguns vinhos do Porto, da Madeira e de Jerez, a autenticação foca-se na distinção entre os originais e as imitações (Câmara *et al.*, 2006). Nos vinhos rosés, a autenticação é centrada na identificação da matéria-prima usada (isto é, se são provenientes de uvas tintas, ou de uma mistura de uvas brancas e tintas ou de vinhos brancos e tintos) e na cor (de modo a detectar fraudes como a adição de enocianina em vinhos brancos) (García-Jares e Médina, 1993; Palade e Popa, 2014).

II.1.2.1. Origem Geográfica

Este tópico requer a introdução de alguns conceitos como *terroir*, Denominação de Origem Protegida e Indicação Geográfica Protegida.

O conceito *terroir* refere-se a uma área na qual o conhecimento colectivo das interações entre o ambiente físico e biológico e as práticas culturais aplicadas, resultam em características distintivas dos produtos originários dessa área. Acrescenta-se ainda que o conceito *terroir* inclui solo, topografia, clima, paisagem e biodiversidade característicos (Resolução OIV/VITI 333/2010).

A nível europeu os vinhos podem ser classificados com as designações de Denominação de Origem Protegida (DOP) e Indicação Geográfica Protegida (IGP). A DOP refere-se ao nome de uma região, local ou país permitindo identificar um produto que seja originário dessa região, local ou país e cuja qualidade ou características se devem à origem geográfica, incluindo factores naturais e humanos e cuja produção, transformação e elaboração ocorrem nessa área geográfica delimitada. A IGP refere-se ao nome de uma região, local ou país permitindo identificar um produto que seja originário dessa região, local ou país e cuja reputação ou determinada qualidade ou característica se devem à origem geográfica. Neste caso a ligação entre o produto e o seu local de origem é mais ténue, sendo os vinhos elaborados com pelo menos 85% de uvas provenientes dessa área geográfica delimitada. Tanto os vinhos com DOP como os vinhos com IGP são controlados por uma entidade certificadora (Reg. (CE) Nº 479/2008, do Conselho, de 29 de Abril de 2008).

II.1.2.1.1. Marcadores de Origem Geográfica

Têm sido estudadas diversas estratégias com vista à autenticação dos vinhos em termos de origem geográfica, como a análise ao perfil fenólico (Kallithraka *et al.*, 2001), ao perfil mineral (Greenough *et al.*, 1997; Jakubowski *et al.*, 1999; Almeida, 2002; Almeida e Vasconcelos, 2003; Thiel *et al.*, 2004; Fabani *et al.*, 2010; Dutra *et al.*, 2011; Catarino *et al.*, 2012; Boschetti *et al.*, 2013; Coetzee *et al.*, 2014; Mercurio *et al.*, 2014), aos isótopos estáveis (Dordevic *et al.*, 2012; Bejjani *et al.*, 2014; Camin *et al.*, 2015) e aos compostos orgânicos de chumbo (Mihaljevič *et al.*, 2006).

Estudou-se ainda a presença de diferentes compostos presentes no vinho e a sua relação com a origem geográfica de cada vinho. A determinação da razão entre álcoois com seis carbonos foi também usada para distinguir vinhos verdes de diferentes origens (Oliveira *et al.*, 2006). Em alguns vinhos do Brasil, associou-se cada amostra à sua origem geográfica a partir dos metais presentes (Boschetti *et al.*, 2013). Em vinhos da Argentina, considerou-se a utilização de antocianinas como marcador de origem geográfica, tendo sido possível distinguir três regiões vitivinícolas das restantes (Pisano *et al.*, 2015).

Alguns estudos consideram a utilização de vários marcadores em simultâneo para garantir a autenticidade de um vinho. Por exemplo, o uso da razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em conjunto com a composição elementar ou com $\delta^{18}\text{O}$ permite obter melhores resultados na verificação da autenticidade dos vinhos (Horn *et al.*, 1997; Almeida e Vasconcelos, 2003).

Entre as abordagens referidas, a composição mineral do vinho é o marcador mais promissor na verificação da sua origem geográfica. É de referir que a análise mineral foca-se nos elementos que sofrem poucas variações durante o processamento do vinho, apesar de estes se encontrarem em reduzidas concentrações ou serem vestigiais como Cr, Co, Sb, Cs, Sc, Eu, Hf, Ta, Li e Rb. A determinação de elementos terras raras com vista à verificação da origem geográfica dos vinhos foi também estudada através de espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS), tendo-se confirmado a sua aplicabilidade na rastreabilidade e avaliação da origem geográfica (Catarino *et al.*, 2011; Castro, 2015). Contudo, após tratamento com bentonites, devido ao seu potencial efeito de contaminação, os elementos terras raras poderão não ser os marcadores mais adequados (Jakubowski *et al.*, 1999; Catarino *et al.*, 2008a). Existem ainda diversas variáveis como a contaminação ambiental, práticas enológicas, alterações climáticas e o processo de vinificação que podem alterar a composição multi-elementar do vinho, comprometendo a sua relação com o solo (Almeida e Vasconcelos, 2003).

A análise de razões isotópicas, tanto de elementos leves como de elementos pesados, também tem sido bastante estudada. A determinação de isótopos estáveis de elementos leves fornece informação relativamente ao clima, distância em relação ao mar, altitude, latitude e práticas tecnológicas (Rummel *et al.*, 2010). Como exemplo, as razões isotópicas de hidrogénio nos grupos metil e metileno no etanol foram usadas na determinação geográfica de vinhos libaneses (Bejjani *et al.*, 2014). Em vinhos italianos, determinaram-se razões isotópicas de carbono, oxigénio e hidrogénio de modo a verificar a origem geográfica de diferentes vinhos e identificar possíveis adulterações (Dordevic *et al.*, 2012; Camin *et al.*, 2015).

Quanto às razões de isótopos de elementos pesados, tem-se estudado a sua relação com a origem geográfica do produto (Horn *et al.*, 1993; Rummel *et al.*, 2010). Na República Checa, a razão isotópica de chumbo foi determinada em vinhos e solos de modo a estabelecer correspondência entre os vinhos e os tipos de poluição de cada área estudada (Mihaljevič *et al.*, 2006). Recentemente, tem-se estudado a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ para a verificação da origem geográfica de vinhos (Horn *et al.*, 1993; Almeida e Vasconcelos, 2001; Almeida, 2002; Barbaste *et al.*, 2002; Almeida e Vasconcelos, 2003; Boari *et al.*, 2008; Vorster *et al.*, 2010; Catarino *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2014; Mercurio *et al.*, 2014; Petrini *et al.*, 2014; Castro, 2015; Durante *et al.*, 2015; Fernandes *et al.*, 2015; Marchionni *et al.*, 2015). No entanto, refere-se que a razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ pode sofrer alterações em relação ao seu valor original devido ao uso de fertilizantes, à água da chuva e à deposição de poeiras (Horn *et al.*, 1997; Stewart *et al.*, 1998).

II.1.2.1.1.1. Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

A razão isotópica de Sr é bastante utilizada na datação e determinação da origem geográfica de rochas e minerais. O Sr é um metal alcalino-terroso, sólido à temperatura ambiente e apresenta quatro isótopos estáveis nas seguintes proporções: ^{84}Sr : 0,55-0,58 %; ^{86}Sr : 9,75-9,99 %; ^{87}Sr : 6,94-7,14 % e ^{88}Sr : 82,29-82,77 % (Berglund e Wieser, 2011). É de referir que enquanto os isótopos ^{84}Sr , ^{86}Sr e ^{88}Sr aparecem em proporções relativas constantes, o ^{87}Sr aumenta gradualmente nos minerais devido ao decaimento- β radioactivo do isótopo ^{87}Rb . Normalmente, as rochas mais antigas apresentam uma razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ superior para um mesmo valor inicial de Rb/Sr. O isótopo ^{87}Sr varia então com a idade geográfica e, conseqüentemente, com a localização geográfica pelo que pode ser utilizado na autenticação em termos de origem de diferentes rochas (Capo *et al.*, 1998; Vanhaecke *et al.*, 1999; Almeida e Vasconcelos, 2001).

Recentemente, identificou-se uma relação entre os solos de três DOP portuguesas e as formações geológicas sobre as quais se desenvolveram, através da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ (Martins *et al.*, 2014). Alguns estudos afirmam ainda que as plantas apresentam razões semelhantes às das rochas presentes no mesmo local visto que absorvem os elementos nas mesmas proporções em que estes estão no solo (Stewart *et al.*, 1998; Almeida e Vasconcelos, 2003). É de referir que a absorção efectuada pelas plantas depende de vários factores como a casta, a idade da planta, a fitossanidade, a profundidade das raízes, o pH do solo, a drenagem e as condições atmosféricas. Acrescenta-se ainda que a planta absorve os elementos na mesma proporção em que estes se encontram no solo, não alterando a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ (Greenough *et al.*, 1997). Por outro lado, o metabolismo da planta também não provoca alterações neste parâmetro (Capo *et al.*, 1998).

Foi ainda demonstrado que a razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de diversos vinhos apresenta valores semelhantes aos das rochas e solos respectivos, bem como aos das uvas correspondentes (Horn *et al.*, 1997; Almeida e Vasconcelos, 2004). Segundo Mercurio *et al.* (2014), esta razão é transferida e mantida desde o solo, ramos, folhas e uvas até ao vinho.

Nas **tabelas 2 e 3**, apresentam-se valores da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em rochas, solos, uvas, mostos e vinhos de diferentes origens.

Tabela 2 – Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em rochas, solos, uvas e mostos.

Região de origem	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	Referências
Rochas		
Basaltos oceânicos	0,702 - 0,707	(Capo <i>et al.</i> , 1998)
Calcários	0,706 - 0,709	(Capo <i>et al.</i> , 1998)
Crosta continental	0,716	(Capo <i>et al.</i> , 1998)
Granitos Pré-Câmbrico	> 0,71	(Capo <i>et al.</i> , 1998)
Rochas vulcânicas continentais	0,702 - 0,714	(Capo <i>et al.</i> , 1998)
Xisto Paleozóico	0,7215	(Faure e Hurley, 1963)
Xisto Vendiano (fracções argilosas)	0,71790 - 0,93785	(Gorokhov <i>et al.</i> , 2010)
Solos		
África do Sul, <i>Roberston</i>	0,7128 - 0,7155	(Vorster <i>et al.</i> , 2010)
África do Sul, <i>Stellenbosch</i>	0,7082 - 0,7159	(Vorster <i>et al.</i> , 2010)
África do Sul, <i>Swartland</i>	0,7081 - 0,7150	(Vorster <i>et al.</i> , 2010)
África do Sul, <i>Walker Bay</i>	0,7092 - 0,7138	(Vorster <i>et al.</i> , 2010)
Itália, <i>Campi Flegrei</i>	0,707884 - 0,708134	(Mercurio <i>et al.</i> , 2014)
Itália, <i>Cesanese</i>	0,709947 - 0,711421	(Marchionni <i>et al.</i> , 2015)
Itália, <i>Modena</i>	0,70792 - 0,71198	(Durante <i>et al.</i> , 2015)
Itália, <i>Prosecco</i>	0,70772 - 0,71097	(Petrini <i>et al.</i> , 2014)
Portugal, Dão	0,737	(Martins <i>et al.</i> , 2014)
Portugal, Douro	0,732	(Almeida e Vasconcelos, 2004)
Portugal, Óbidos	0,714	(Martins <i>et al.</i> , 2014)
Portugal, Palmela	0,711	(Martins <i>et al.</i> , 2014)
Uvas		
Itália, <i>Campi Flegrei</i>	0,708164 - 0,708441	(Mercurio <i>et al.</i> , 2014)
Itália, <i>Cesanese</i>	0,708938 - 0,710622	(Marchionni <i>et al.</i> , 2015)
Mostos		
Itália, <i>Campania</i>	0,707615	(Boari <i>et al.</i> , 2008)
Itália, <i>Cesanese</i>	0,708991 - 0,710377	(Marchionni <i>et al.</i> , 2015)
Itália, <i>Latium</i>	0,709174	(Boari <i>et al.</i> , 2008)
Itália, <i>Prosecco</i>	0,70706 - 0,71266	(Petrini <i>et al.</i> , 2014)
Portugal, Douro	0,727 - 0,731	(Almeida e Vasconcelos, 2004)

Tabela 3 – Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em vinhos.

Região de origem	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	Referências
Vinhos		
África do Sul (Solo Granítico)	0,71255	(Barbaste <i>et al.</i> , 2002)
África do Sul, <i>Roberston</i>	0,7113 - 0,7154	(Vorster <i>et al.</i> , 2010)
África do Sul, <i>Stellenbosch</i>	0,7070 - 0,7110	(Vorster <i>et al.</i> , 2010)
África do Sul, <i>Swartland</i>	0,7075 - 0,7141	(Vorster <i>et al.</i> , 2010)
África do Sul, <i>Walker Bay</i>	0,7078 - 0,7131	(Vorster <i>et al.</i> , 2010)
Argentina, <i>Cordoba</i>	0,7104	(Di Paola-Naranjo <i>et al.</i> , 2011)
Argentina, <i>Mendoza</i>	0,7072	(Di Paola-Naranjo <i>et al.</i> , 2011)
Argentina, <i>San Juan</i>	0,7081	(Di Paola-Naranjo <i>et al.</i> , 2011)
Austrália (Solo Arenoso)	0,70963	(Barbaste <i>et al.</i> , 2002)
Califórnia (Solo Basáltico)	0,706882	(Barbaste <i>et al.</i> , 2002)
Chile (Solo Basáltico)	0,70471	(Barbaste <i>et al.</i> , 2002)
Itália, <i>Abruzzo</i>	0,70903	(Horn <i>et al.</i> , 1993)
Itália, <i>Basilicata</i>	0,707983	(Boari <i>et al.</i> , 2008)
Itália, <i>Campania</i>	0,707930	(Boari <i>et al.</i> , 2008)
Itália, <i>Cesanese</i>	0,708978 - 0,710586	(Marchionni <i>et al.</i> , 2015)
Itália, <i>Frascati</i>	0,70835 - 0,70943	(Horn <i>et al.</i> , 1993)
Itália, <i>Latium</i>	0,709177	(Boari <i>et al.</i> , 2008)
Itália, <i>Modena</i>	0,70860 - 0,70929	(Durante <i>et al.</i> , 2015)
Itália, <i>Tuscany</i>	0,709236	(Boari <i>et al.</i> , 2008)
Itália, <i>Valpolicella</i>	0,70889 - 0,70900	(Horn <i>et al.</i> , 1993)
Itália, <i>Veneto</i>	0,70872	(Horn <i>et al.</i> , 1993)
França, <i>Bordeaux</i>	0,703	(Almeida e Vasconcelos, 2001)
França, <i>Chablis</i> (Solo Arenoso)	0,7086	(Barbaste <i>et al.</i> , 2002)
França, <i>Muscadet</i>	0,70931 - 0,70996	(Horn <i>et al.</i> , 1993)
França, <i>St. Emillion</i> (Solo Arenoso)	0,70943 - 0,71005	(Barbaste <i>et al.</i> , 2002)
Kosovo	0,70981 - 0,71033	(Horn <i>et al.</i> , 1993)
Portugal (Solo Granítico)	0,71203	(Barbaste <i>et al.</i> , 2002)
Portugal, <i>Bairrada</i>	0,712	(Almeida e Vasconcelos, 2001)
Portugal, <i>Borba</i>	0,712	(Almeida e Vasconcelos, 2001)
Portugal, <i>Dão</i>	0,726	(Almeida e Vasconcelos, 2001)
Portugal, <i>Douro</i>	0,725	(Almeida e Vasconcelos, 2001)
Portugal, <i>Douro</i>	0,729	(Almeida e Vasconcelos, 2001)
Portugal, <i>Douro</i>	0,7130 - 0,7175	(Fernandes <i>et al.</i> , 2015)
Portugal, <i>Madeira</i>	0,710	(Almeida e Vasconcelos, 2001)
Portugal, <i>Madeira</i> (Solo Basáltico)	0,7066	(Barbaste <i>et al.</i> , 2002)

II.2. Processos de separação com membranas

Uma membrana é definida como uma barreira à transferência de massa, isto é, impede a permeação de um ou mais solutos separando-os da restante solução. De facto, uma membrana é uma barreira selectiva cujas interacções entre esta e a solução a permear dependem do material de que é feita e da estrutura que apresenta. O transporte preferencial de determinados compostos da solução através da membrana é definido principalmente por estas duas variáveis.

Num processo de membranas, a alimentação circula tangencialmente à membrana e é dividida em duas correntes, o permeado e o concentrado. O permeado corresponde à corrente que permeia preferencialmente através da membrana, enquanto que o concentrado é a corrente que contém os compostos rejeitados por esta.

A utilização de processos com membranas tem como vantagens a selectividade da separação, baixos consumos energéticos e o facto de ser modular. Como as membranas estão arrançadas em módulos é possível adaptar a montagem ao caudal que se quer tratar em qualquer altura, bem como fazer a reparação de algum módulo sem paragem do processo (Pinho et al., 2012).

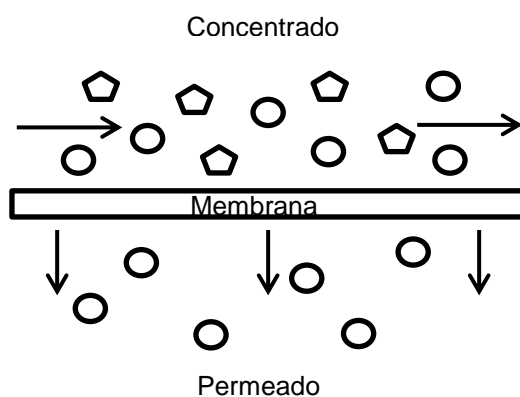


Figura 1 – Representação esquemática do funcionamento de uma membrana semi-permeável.

II.2.1. Tipos de processos de separação com membranas

Actualmente existem diversos processos de separação com membranas que se distinguem pelo tipo de membranas e pela força motriz responsável pela transferência de massa. A microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e osmose inversa (OI) são processos cuja força motriz é um gradiente de pressão, na diálise e na pervaporação a força motriz é um gradiente de concentração enquanto que a electrodialise ocorre por acção de um campo eléctrico (Pinho et al., 2012). Na **figura 2** está representado qual o método mais adequado para o tratamento de cada solução (Minhalma, 2001). Refere-se que o Sr pode aparecer sob a forma de colóides e sais, pelo que o valor de Sr total pode ser afectado por diferentes processos com membranas.

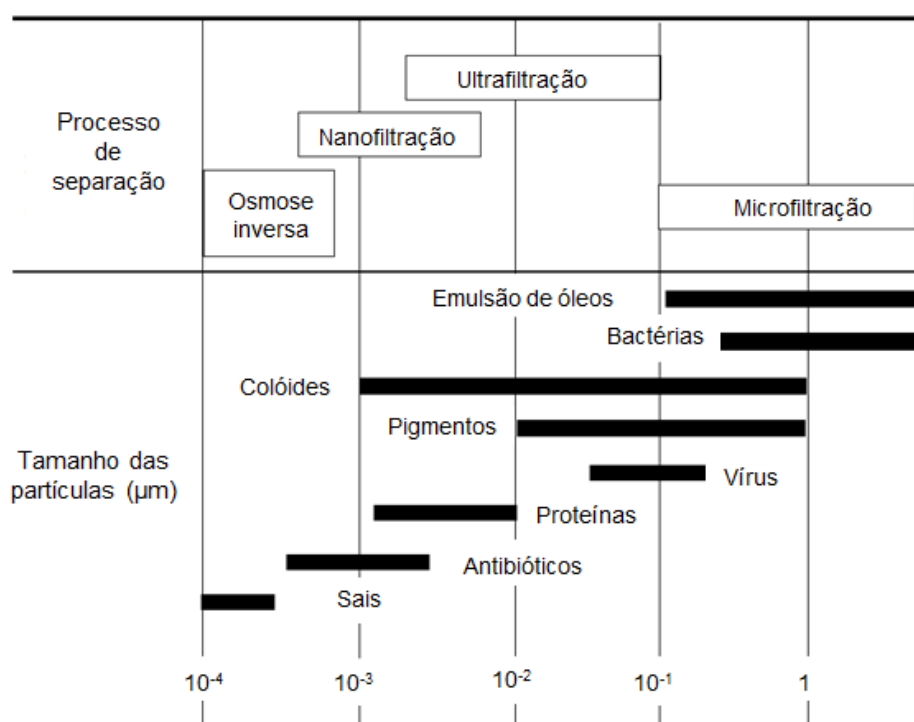


Figura 2 – Representação dos processos mais adequados à separação de cada soluto.

As características das membranas correspondentes a cada processo estão apresentadas na **tabela 4** (Pinho et al., 2012).

Tabela 4 – Características das membranas de microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa.

	Microfiltração	Ultrafiltração	Nanofiltração	Osmose Inversa
Raio de poro (nm)	100 – 10 ⁴	1 – 10	0,5 – 5	---
MWCO (Da)	Muito elevado	1000 – 10 ⁶	100 – 1000	10 – 100
Pressões Transmembranares (bar)	0,1 – 1	0,5 – 5	10 – 40	20 – 100
Mecanismo de transporte	Exclusão por tamanho de partículas	Exclusão molecular/ Difusão	Exclusão molecular/ Difusão/ Interações electroestáticas	Difusão
Aplicações	Esterilização/ Clarificação	Separação de macromoléculas	Separação de sais polivalentes e pequenos solutos	Separação de sais e micro solutos

II.2.1.1. Nanofiltração

A NF é um processo de separação por membranas conduzido por pressão. Este processo é utilizado na separação de pequenos solutos orgânicos com pesos moleculares entre 200 e 1000 Da e no fraccionamento de sais, apresentando um coeficiente de rejeição a sais monovalentes entre 40 e 90% e a sais bivalentes superiores a 90%. A alimentação circula tangencialmente à membrana e é dividida em duas correntes, o permeado e o concentrado. O permeado corresponde à corrente que permeia preferencialmente através da membrana enquanto que o concentrado é a corrente que contém os compostos rejeitados por esta. A separação neste tipo de membranas ocorre por fenómenos de difusão (como na OI), por exclusão molecular (como na UF) e por interações electrostáticas que eliminam selectivamente os iões polivalentes (Pinho et al., 2012). Este processo é influenciado pela membrana, pressão, temperatura, caudal de circulação, concentração da alimentação e propriedades do solvente (Lança, 2011).

Com o decorrer da operação desenvolve-se um perfil transversal de concentrações junto à membrana, sendo este fenómeno designado por polarização de concentração. A eficiência da NF vai depender da ocorrência deste fenómeno, que é influenciado pelas características da membrana e pelas condições de operação (Pinho et al., 2012).

A NF apresenta várias vantagens visto consumir pouca energia, não necessitar da adição de químicos, possibilitar o dimensionamento a diferentes escalas, poder operar em contínuo e em descontínuo e estarem disponíveis uma grande variedade de equipamentos (Minhalma, 2001). No caso particular da NF de mosto de uva, este processo tem como vantagens o facto de permitir uma concentração e rectificação simultânea, de preservar as características organolépticas e aromáticas, de poder ser efectuada a uma pressão inferior (em relação à OI) e de eliminar os resíduos sólidos. A grande vantagem do uso da NF em relação à OI é que neste último processo o concentrado perde muita água relativamente à quantidade de etanol. Este facto faz com que o teor alcoólico do vinho aumente para um valor excessivo, diminuindo a sua qualidade. Na NF a quantidade de água perdida é proporcional à quantidade de etanol, pelo que o teor alcoólico do vinho não se altera significativamente. Esta técnica deverá ser seguida por outra operação em que ocorra a separação do etanol e da água (destilação do permeado), para que esta possa ser novamente adicionada ao vinho, diminuindo assim o seu teor alcoólico (Gonçalves et al., 2010; Peuchot, 2010).

II.2.2. Tipos de membranas

Dependendo do material e da estrutura da membrana, esta apresenta diferentes características adequadas ao objectivo a que se destina. Na síntese de membranas podem usar-se produtos inorgânicos como vidros porosos, grafite, porcelanas e óxidos metálicos; polímeros naturais como diacetato e triacetato de celulose, propionato-acetato de celulose, butirato-acetato de celulose e metacrilato-acetato de celulose e polímeros sintéticos como poliamida, poliacrilonitrilo, polissulfona, polipropileno. As membranas podem ser agrupadas consoante a sua estrutura em membranas densas homogéneas, membranas assimétricas integrais, membranas assimétricas compostas e membranas microporosas.

Neste caso usar-se-á uma membrana assimétrica integral preparada pelo método de inversão de fases, descrito de seguida. Esta membrana é constituída por duas camadas, sendo a camada activa muito densa, com uma espessura entre 0,1 e 1 μm e a camada suporte menos densa, com uma espessura entre 100 e 200 μm . O tamanho do poro vai crescendo desde a camada activa, que determina a selectividade da membrana, até à camada suporte, que garante a resistência mecânica da membrana. Este tipo de membranas apresenta elevadas rejeições a determinados solutos e elevados fluxos de permeação. Uma das vantagens da utilização destas membranas é a sua baixa colmatção relativamente às membranas simétricas (Minhalma, 2001).

II.2.2.1. Preparação da membrana

O método de inversão de fases é composto pelas quatro etapas descritas de seguida.

Inicialmente prepara-se a solução polimérica que é constituída por polímero, solvente e aditivo. O aditivo é o responsável pela formação dos poros da membrana, sendo esta tanto mais porosa quanto maior for o teor em aditivo. Neste caso em particular, o polímero usado foi acetato de celulose, o solvente foi acetona e o aditivo foi formamida. Esta solução deve ser agitada até apresentar um aspecto homogéneo.

De seguida a solução é espalhada sobre uma placa de vidro com o auxílio de uma faca, formando um filme polimérico.

Após o espalhamento da solução ocorre a evaporação do solvente na superfície em contacto com o ar. O tempo de evaporação deve ser controlado visto que quanto maior o tempo, menos porosa será a membrana.

Por fim, o filme polimérico é imerso num meio de coagulação com um não solvente a baixa temperatura, por exemplo, água e gelo a uma temperatura entre 0 e 3°C. Na estrutura polimérica ocorre a troca de acetona e formamida pela água e, em simultâneo, o filme precipita.

É possível obter membranas com diferentes características, isto é, diferentes permeabilidades e tamanho de poros, através de uma alteração na composição da solução polimérica e no tempo de evaporação.

Pode ainda efectuar-se uma operação de *annealing* de modo a reduzir o tamanho dos poros, transformando assim uma membrana de UF numa de NF (Pinho et al., 2012).

II.2.3. Tipos de módulos de membranas

Os módulos de membranas surgiram a nível industrial devido à necessidade de obter elevadas áreas de membrana por unidade de volume. Um módulo é composto por um invólucro, suportes para as membranas e por condutas de distribuição da alimentação e de recolha de permeado. Os módulos de membranas podem ser combinados em paralelo ou em série, adequando-se a cada situação. Um arranjo de módulos permite aumentar ou diminuir a área de membrana total e efectuar a manutenção de apenas um módulo sem a paragem de toda a instalação de permeação. Existem variados tipos de módulos, sendo eles tubulares, de pratos planos, enrolados em espiral e

de fibras ocas, conforme as figuras apresentadas. Em todos eles a alimentação é feita tangencialmente à membrana, de modo a que não haja acumulação de soluto na superfície (Pinho et al., 2012).

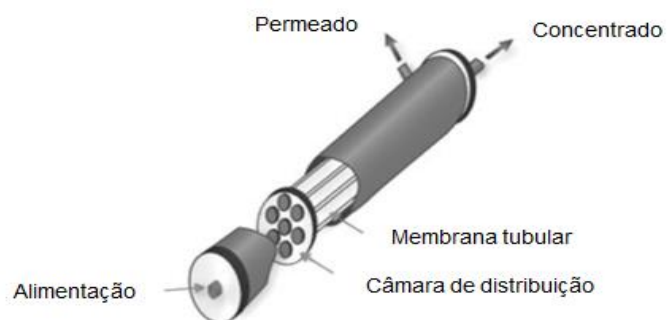


Figura 3 – Esquema de um módulo tubular.

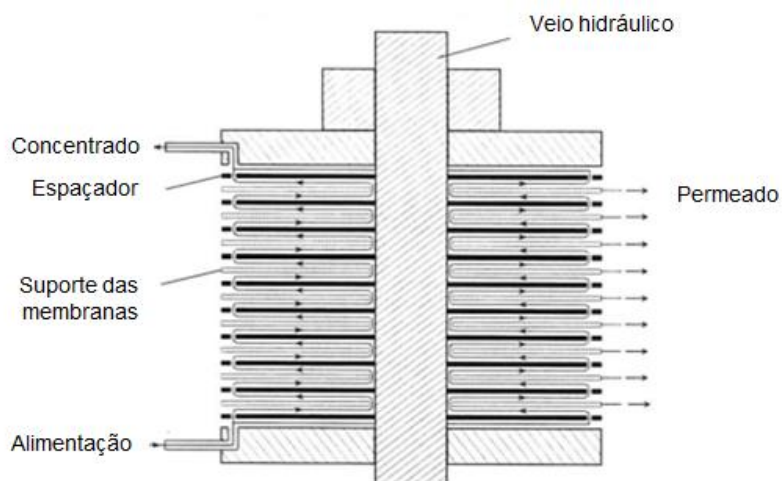


Figura 4 – Esquema de um módulo de pratos planos.

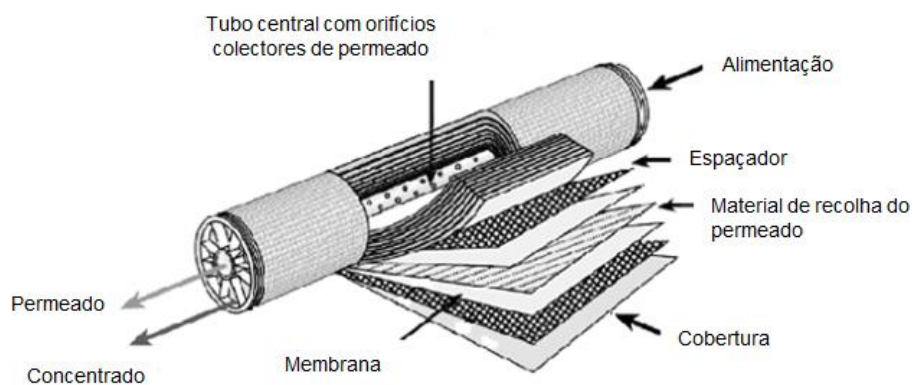


Figura 5 – Esquema de um módulo enrolado em espiral.

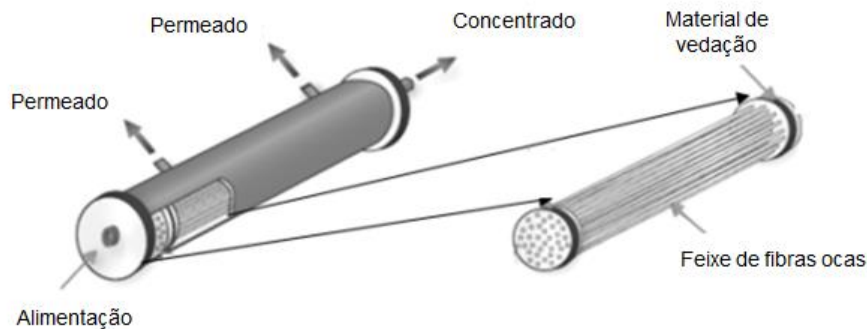


Figura 6 – Esquema de um módulo de fibras ocas.

As características de cada módulo estão apresentadas na **tabela 5** (Pinho et al., 2012).

Tabela 5 – Características dos diferentes tipos de módulos de membranas.

Tipos de módulos	Tubular	Pratos planos	Enrolados em espiral	Fibras ocas
Compactação (m^2/m^3)	20 – 30	400 – 600	800 – 1000	600 – 1200
Preço	Muito elevado	Elevado	Baixo	Muito baixo
Facilidade de limpeza	Excelente	Boa	Boa	Má
Controlo da transferência de massa adjacente à membrana	Muito bom	Razoável	Razoável	Pobre
Aplicações	MF, UF e NF a baixa pressão	MF tangencial, UF, NF e OI	UF, NF e OI	OI

II.2.4. Caracterização da membrana de nanofiltração

Os fluxos e as rejeições de uma membrana de NF dependem das interações entre a membrana, o soluto e o solvente. A caracterização das membranas tem como objectivo o conhecimento do comportamento da membrana, que depende da estrutura e material da mesma. No caso deste trabalho, determinou-se a permeabilidade hidráulica da membrana e estudou-se a rejeição a três sais (NaCl , Na_2SO_4 e CaSO_4) e à glucose.

II.2.5. Modelos de transferência de massa

II.2.5.1. Polarização de Concentração

Num processo de membranas a alimentação é feita tangencialmente à membrana, sendo que esta irá rejeitar total ou parcialmente o soluto enquanto permeia o solvente. Ao longo da operação os solutos retidos acumulam-se junto à membrana, sendo o seu transporte para o seio da alimentação feito por difusão. Quando se atinge o estado estacionário, o transporte do soluto para o seio da alimentação ocorre por difusão e por convecção transversal. Isto é, o fluxo convectivo de soluto em

direção à membrana é equilibrado pelo fluxo de soluto através da membrana e pelo fluxo difusivo de soluto da superfície da membrana para o seio da alimentação. Estabelece-se assim um gradiente de concentração à superfície da membrana designado por Polarização de Concentração, de acordo com a **figura 7**.

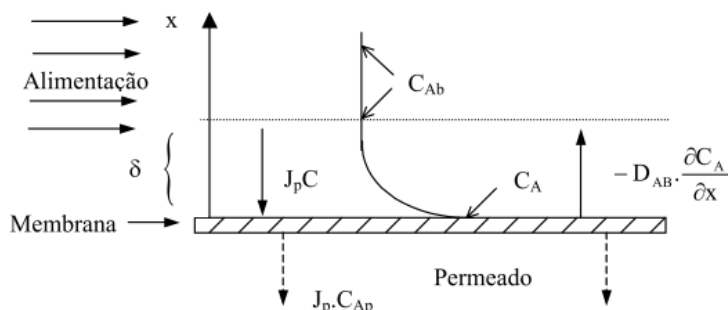


Figura 7 – Representação do perfil de concentrações na fase líquida adjacente à membrana em estado estacionário.

Onde C_{Ab} é a concentração de soluto na alimentação, C_{Am} a concentração de soluto à superfície da membrana, C_{Ap} a concentração de soluto no permeado, J_p o fluxo de permeação e δ a espessura da sub-camada laminar.

Este fenómeno é tanto mais acentuado quanto maior for a concentração de soluto e a rejeição da membrana. A sua ocorrência é um dos factores limitantes dos processos de membranas visto reduzir os fluxos de permeação, pois a camada de polarização actua como uma resistência adicional ao transporte. O fluxo pode atingir novamente o valor inicial através de uma limpeza mecânica ou química.

A quantificação da Polarização de Concentração pode ser feita por modelos de transferência de massa (Pinho et al., 2012).

II.2.5.2. Modelo do Filme

O modelo do filme pode ser aplicado a processos de filtração tangencial, como é o caso da NF. Este modelo admite a existência de duas zonas de escoamento da solução alimentada, sendo que uma consiste num filme estagnado junto à membrana de espessura δ , enquanto que na outra a solução esco livremente. Considera-se ainda que à distância δ da superfície da membrana ocorre mistura completa e que o escoamento do fluido no filme junto à membrana é predominantemente laminar.

O balanço de massa ao soluto A em estado estacionário, num elemento de volume situado no filme adjacente à membrana é apresentado na **equação 1**, onde J_p é o fluxo de permeado, C_A é a concentração do soluto A, D_{AB} é a difusividade do soluto A em solução a diluição infinita, x é a distância à superfície da membrana e C_{Ap} é a concentração de soluto no permeado.

$$J_p C_{Ap} = -D_{AB} \frac{\partial C_A}{\partial x} + J_p C_A \quad (1)$$

A integração desta equação com as condições fronteira seguintes (**equações 2 e 3**) resulta na **equação 4**.

$$x=0, C_A=C_{Am} \quad (2)$$

$$x=\delta, C_A=C_{Ab} \quad (3)$$

$$J_p = \frac{D_{AB}}{\delta} \ln \left(\frac{C_{Am}-C_{Ap}}{C_{Ab}-C_{Ap}} \right) \quad (4)$$

De acordo com a teoria do filme, o coeficiente de transferência de massa é dado pela **equação 5**.

$$k = \frac{D_{AB}}{\delta} \quad (5)$$

Através da sua substituição na **equação 4**, obtém-se a **equação 6** que representa a polarização de concentração (Pinho et al., 2012).

$$\frac{C_{Am}-C_{Ap}}{C_{Ab}-C_{Ap}} = e^{\frac{J_p}{k}} \quad (6)$$

II.2.5.3. Modelo Osmótico

O modelo osmótico admite que na permeação de soluções de compostos de baixo peso molecular, desenvolvem-se pressões osmóticas junto à membrana que provocam uma diminuição da pressão transmembranar efectiva e, conseqüentemente, um decréscimo dos fluxos de permeação. Estes fluxos de permeação são equivalentes aos fluxos de permeação do solvente puro, se se considerar uma diferença de pressão de acordo com a **equação 7**.

$$J_p = \frac{L_p}{\mu} (\Delta P - \Delta \pi) \quad (7)$$

Onde L_p é a permeabilidade hidráulica da membrana, μ é a viscosidade da solução e $\Delta \pi$ é a diferença entre a pressão osmótica à superfície da membrana (π_m) e a pressão osmótica no permeado (π_p), de acordo com a **equação 8**.

$$\Delta \pi = \pi_m - \pi_p \quad (8)$$

No caso de soluções ideais diluídas, a pressão osmótica varia linearmente com a concentração de soluto de acordo com a equação de *Van't Hoff*.

$$\pi = C_A \frac{RT}{PM} \quad (9)$$

Onde C_A é a concentração de soluto, R a constante dos gases perfeitos, T a temperatura da solução e PM a massa molecular do soluto.

Para soluções não ideais a pressão osmótica pode ser determinada a partir da **equação 10**, onde A_i são constantes viriais.

$$\pi = \frac{RT}{PM} (C_A + \sum_{i=2}^n A_i C_A^i) \quad (10)$$

Como a obtenção das constantes viriais é complexa, normalmente recorre-se a uma simplificação da **equação 10**, apresentada de seguida (**equação 11**).

$$\pi = a.C^b \quad (11)$$

Onde a e b são constantes características de cada solução que se encontram disponíveis na literatura (Pinho et al., 2012)⁴.

II.2.5.4. Modelo das Resistências em Série

O modelo das resistências em série admite que, para além da resistência intrínseca da membrana, existem outras resistências à permeação como os fenómenos de polarização de concentração, a formação de um gel e a adsorção de solutos pela membrana. Considerando estas resistências, os fluxos de permeação podem ser descritos pela **equação 12**.

$$J_p = \frac{\Delta P}{\mu(R_m + R_{pc} + R_g + R_a)} \quad (12)$$

Onde R_m é a resistência intrínseca da membrana, R_{pc} é a resistência devido aos fenómenos de polarização de concentração, R_g é a resistência devido à formação de um gel e R_a a resistência devido a fenómenos de colmatção, como a adsorção (Pinho et al., 2012).

II.3. Aplicações de processos de membranas na indústria do vinho

De acordo com a OIV, os processos com membranas podem ser usados no tratamento dos mostos, concretamente na desidratação parcial, na redução da concentração de açúcar, no ajuste da acidez e do pH e na redução da concentração de determinados ácidos orgânicos. Os processos com membranas têm também aplicação directa nos vinhos, nomeadamente na estabilização tartárica, na desidratação parcial, na desalcoolização parcial, no ajuste da acidez e do pH, na redução de determinados ácidos orgânicos e na redução da acidez volátil. Tanto para o tratamento dos mostos como dos vinhos, existem vários processos de membranas que podem ser usados individualmente ou combinados como a MF, a UF, a NF, a OI, a electrodialise, entre outros (OIV, 2015).

A MF frontal, a MF tangencial e a UF estão bem estabelecidas como operações de clarificação de vinhos e mostos e a electrodialise como operação de estabilização tartárica de vinhos. A MF frontal pode ser usada na remoção de microorganismos antes do engarrafamento. A MF tangencial também tem sido aplicada na remoção de organismos mas principalmente na clarificação de vinhos. Este método tem como vantagem em relação aos métodos convencionais, o facto de não produzir efluentes resultantes dos meios de filtração, como a terra de diatomáceas. A electrodialise é usada na estabilização tartárica do vinho, isto é, permite a remoção do bitartarato de potássio em excesso. A concentração/rectificação dos mostos tem sido feita através de evaporação a vácuo, OI ou resinas de permuta iónica, contudo a NF ou a NF combinada com a electrodialise são vistos como processos alternativos (Gonçalves, 2002; Pinho, 2010).

Recentemente foram estudados novos processos de membranas com aplicação no processamento do vinho. Os processos de remoção de proteínas servem essencialmente para prevenir a casse proteica. A utilização de bentonites na remoção de proteínas é o processo mais

⁴ http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?Itemid=206&id=57&option=com_content&task=view#4
(Consultado em 28.04.2015)
http://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/9206/9206_6.PDF (Consultado em 28.04.2015)

comum contudo a adsorção com bentonites não é específica para proteínas, sendo eliminadas algumas espécies carregadas ou agregados, provocando uma alteração nas características organolépticas do vinho. A UF é um processo que tem sido estudado como alternativa ao tratamento com bentonites e, apesar de remover eficientemente as proteínas do vinho, verificam-se também alterações nas propriedades organolépticas (Ferreira *et al.*, 2001). A remoção de proteínas com membranas de fibra oca apresenta uma redução de cor de 95% em comparação com a redução de 65% num processo com bentonites (Severo *et al.*, 2007). No caso dos vinhos tintos, foram comparadas diversas membranas de MF no processo de clarificação (Urkiaga *et al.*, 2002). Já nos vinhos brancos, estudou-se a clarificação dos vinhos não só por MF mas também por UF, tendo-se concluído que a UF é uma boa alternativa em termos de produtividade, qualidade dos vinhos e estabilização tartárica (Gonçalves *et al.*, 2001).

A desalcoolização parcial de soluções de vinhos sintéticos por membranas de fibra oca foi estudada, tendo-se efectuado uma redução de 2% no teor alcoólico sem se verificar perdas significativas de aroma. É de notar que as perdas de aroma são tanto maiores, quanto maior for a redução do teor de etanol (Diban *et al.*, 2008). A desalcoolização parcial de vinhos por destilação osmótica foi também estudada, tendo-se concluído que se obtém maior fluxo de etanol, bem como melhor remoção de etanol, quando se aumenta a velocidade das soluções de alimentação e *stripping* e a temperatura do sistema. O fluxo de etanol pode ainda ser superior se o *stripper* utilizado for água. A concentração de etanol pode ser reduzida até 34% da concentração inicial do vinho num tempo de operação de 6 horas, contudo neste estudo é referido que existem perdas significativas de aroma (Varavuth *et al.*, 2009). A desalcoolização total de vinhos por pervaporação a várias temperaturas foi já efectuada, tendo-se verificado que para temperaturas superiores o fluxo de permeado é maior, contudo a eficiência da separação é menor. É de referir que este processo requer um elevado investimento inicial devido ao custo das membranas de pervaporação (Takács *et al.*, 2007).

A NF tem sido estudada para diversas aplicações na indústria alimentar, nomeadamente na redução de dureza da água, tratamento de águas residuais, processamento de óleos vegetais e na indústria das bebidas, leite e açúcar (Salehi, 2014). Na Enologia, as membranas de NF têm diversas aplicações como a redução do teor alcoólico, que pode ser feita através da redução da concentração de açúcar dos mostos ou da redução da concentração de etanol nos vinhos. Também a redução de ácido málico nos mostos ou da acidez volátil nos vinhos, bem como a acidificação dos mostos e dos vinhos são novas aplicações da NF (Peuchot, 2010). De seguida, apresentam-se diversos estudos sobre a aplicação da NF na Enologia.

A concentração de mostos por NF a um ou dois passos foi estudada, verificando-se uma elevada rejeição aos açúcares e alterações mínimas nos teores dos ácidos málico e tartárico (Versari *et al.*, 2003). Um método para realizar simultaneamente a concentração e a rectificação de mosto de uva através de NF e electrodialise foi também desenvolvido (Pinho *et al.*, 2007). Por outro lado, a NF permite a redução do teor em açúcares do mosto e, assim, a obtenção de um vinho com menor teor alcoólico (García-Martín *et al.*, 2009; García-Martín *et al.*, 2010; Salgado *et al.*, 2012). Estes resultados opostos devem-se à utilização de diferentes membranas de NF aplicadas individualmente ou combinadas. A redução do teor alcoólico dos vinhos pode também ser efectuada directamente

através da NF dos vinhos. As membranas de NF são permeáveis à água e ao etanol, apresentando maiores coeficientes de rejeição aos compostos fenólicos e a outras substâncias constituintes dos vinhos. O vinho concentrado terá menor quantidade de água e álcool, podendo o teor alcoólico ser reduzido através da reposição da água retirada neste concentrado. A separação da água e do etanol presentes no permeado poderá ser feita por destilação (Banvolgyi *et al.*, 2006; Gonçalves *et al.*, 2010; Garcia, 2012). A desalcoholização de vinhos por NF está a ser desenvolvida no sentido de reduzir as perdas de aroma que poderão ocorrer durante o processo. Esta operação é promissora visto que apresenta boa permeabilidade ao etanol e elevada rejeição aos compostos aromáticos, sem prejudicar as propriedades organolépticas do vinho (Catarino e Mendes, 2011). Num outro estudo, utilizou-se uma membrana de NF na operação de pervaporação para a remoção de etanol de soluções aquosas. Este método apresentou elevados fluxos de permeação e promissores factores de separação e selectividade. O comportamento de bebidas alcoólicas multi-componentes foi também estudado, sendo semelhante ao de soluções binárias de etanol e água (Verhoef *et al.*, 2008).

Por fim, refere-se que a redução do ácido málico dos mostos pode ser efectuada por NF a dois passos (Ducruet *et al.*, 2010). Uma potencial aplicação da NF na Enologia é a eliminação de compostos que conferem sabores desagradáveis, como o 4-etilfenol e o 4-etilguaiacol. Esta operação seguida de adsorção permitiu o isolamento dos compostos responsáveis por estes sabores desagradáveis no permeado, contudo a resina utilizada no processo de adsorção não é suficientemente selectiva, sendo necessária uma melhoria nesta segunda operação (Pinho, 2010).

II.4. Influência dos processos de membranas na composição físico-química do vinho

A aplicação de processos de membranas na indústria dos vinhos está a ser cada vez mais estudada, contudo receia-se que estes processos alterem a composição dos vinhos. A maior preocupação recai sobre a retenção de macromoléculas pelas membranas, visto estas serem responsáveis pelas características organolépticas do vinho e pela prevenção da ocorrência de precipitações tartáricas (Gonçalves, 2002).

Foram efectuados vários estudos sobre o efeito dos polissacáridos em processos de membranas, nomeadamente em MF, UF e NF. Num estudo, efectuou-se UF com duas membranas de acetato de celulose com diferentes tamanhos de poro, tendo-se observado retenção apenas das manoproteínas na membrana de malha mais larga (CA-400-32) e retenção das RGII, da maioria das AGP's e das manoproteínas na membrana de malha mais apertada (CA-400-28) (De Sousa *et al.*, 2014). Estudaram-se também as operações de MF e UF na remoção dos polissacáridos em vinhos brancos, tendo-se obtido uma remoção de 10% no caso da MF e de 16% no caso da UF. Este último processo poderá ser uma boa alternativa para a clarificação de vinhos em termos de produtividade, qualidade do vinho e estabilização tartárica (Gonçalves *et al.*, 2001). Num outro estudo, verificou-se que, ao longo da NF de vinhos tintos, o decréscimo do fluxo de permeado se deve aos compostos de maior peso molecular, como é o caso dos polissacáridos e dos polifenóis, visto estes serem os principais responsáveis pela colmatção (Salgado *et al.*, 2013).

Numa simulação de processos de desalcoolização dos vinhos com um contactor de membranas obtiveram-se perdas de aroma inferiores a 20%, estando este valor abaixo dos encontrados na literatura que se encontram entre 30 e 50% (Diban *et al.*, 2013). Na desalcoolização de um vinho tinto por destilação osmótica, as maiores alterações foram na tonalidade e intensidade da cor, bem como nos compostos voláteis (Liguori *et al.*, 2013). Já na desalcoolização por OI, o conteúdo em compostos fenólicos, bem como a actividade antioxidante mantêm-se, obtendo-se vinhos mais estáveis em comparação com outros métodos. Estudou-se também o perfil fenólico e a actividade antioxidante de vinhos desalcoolizados ao longo do tempo, tendo-se notado uma redução significativa tanto da actividade antioxidante como da concentração em compostos fenólicos durante o primeiro mês. Nos restantes sete meses não foram detectadas alterações em nenhum dos parâmetros (Bogianchini *et al.*, 2011). Noutro estudo, é referido que tanto a NF como a pervaporação permitem fazer a desalcoolização do vinho preservando as suas propriedades organolépticas (Catarino e Mendes, 2011). A partir da permeação de solutos orgânicos em soluções hidroalcoólicas por membranas de NF, observou-se que as rejeições aos solutos orgânicos são superiores na ausência de etanol. Verificou-se ainda uma alteração no comportamento das membranas devido à presença de etanol (Labanda *et al.*, 2013).

II.4.1. Influência dos Processos de Membranas na Razão Isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do Vinho

A verificar-se que os processos de membranas têm influência na razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, a utilização deste marcador na verificação da origem geográfica dos vinhos processados por membranas pode não ser válida. Foi demonstrado que após filtração e UF de águas de rios, a razão $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ apresenta uma diminuição significativa. Já numa solução relativa a uma amostra de solo recolhida de uma bacia hidrográfica, esta razão apresenta variações mínimas após filtração e UF (Iliná *et al.*, 2013). Num outro estudo, removeram-se radioisótopos (^{60}Co , ^{137}Cs , ^{85}Sr) de águas residuais através de destilação com membranas de contacto directo, onde se utilizaram membranas com superfície modificada (Khayet, 2013). Segundo Mohammad *et al.* (2014), a NF apresenta uma rejeição de 99% aos isótopos Ra^{2+}_{226} , Ra^{2+}_{228} , UO_2^{2+} , $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2^{2-}$, $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ e Rn_{222} , permitindo a sua remoção de águas subterrâneas contaminadas.

A razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ foi analisada ao longo do processo de vinificação, não tendo sido observadas variações significativas, pelo que, segundo Almeida e Vasconcelos (2004), pode ser utilizada no processo de autenticação em termos de origem geográfica dos vinhos. A razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ foi determinada em vinhos tintos, mostos, solos e rochas de uma região que se caracteriza pela sua diversidade geológica. A partir dos dados recolhidos, verificou-se que esta razão isotópica não sofreu alterações significativas ao longo do tempo nem durante o processo de vinificação, sendo igual nos mostos e nos vinhos. Marchionni *et al.* (2015), afirma também que esta razão pode ser utilizada como marcador de origem geográfica. É de notar que não se encontraram referências sobre a influência da NF na razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$.

III. MATERIAIS E MÉTODOS

III.1. Vinhos

Neste trabalho foram utilizados três vinhos brancos e três vinhos tintos originários de três Denominações de Origem Protegida portuguesas – Óbidos, Palmela e Dão. Na **tabela 6**, estão apresentadas características dos vinhos e dos processos aplicados.

Tabela 6 – Características dos vinhos e dos processos aplicados.

Óbidos Vinho Branco	<ul style="list-style-type: none">- Casta: Fernão Pires- Vinificação por “bica aberta”- Desengace total- Prensagem- Fermentação alcoólica (14 a 17°C)- Sulfitação	Óbidos Vinho Tinto	<ul style="list-style-type: none">- Castas: Calladoc (50%), Syrah (25%) e Alicante Bouchet (25%)- Desengace total- Esmagamento- Fermentação alcoólica (24 a 27°C)- Fermentação maloláctica- Sulfitação
Palmela Vinho Branco	<ul style="list-style-type: none">- Castas: Verdelho e Viosinho- Ano de colheita: 2014- Colagem com bentonite- Filtração	Palmela Vinho Tinto	<ul style="list-style-type: none">- Casta: Castelão- Ano de colheita: 2014
Dão Vinho Branco	<ul style="list-style-type: none">- Casta: Verdelho- Ano de colheita: 2014- Decantação estática- Fermentação alcoólica (16°C)- Colagem com PVPP- Decantação- Colagem com caseína e bentonite- Colocação em depósito de inox	Dão Vinho Tinto	<ul style="list-style-type: none">- Casta: Touriga Nacional- Ano de colheita: 2013- Fermentação alcoólica (24°C)- Colocação em depósito de inox

III.1.1. Caracterização físico-química geral dos vinhos

A análise físico-química geral dos vinhos foi efectuada de acordo com os métodos de análise da OIV descritos de seguida.

Massa volúmica

Este parâmetro foi determinado por areometria, tendo sido feita a correcção da leitura para a temperatura de 20°C (Método OIV-MA-AS2-01B).

Teor alcoólico

O teor alcoólico foi obtido pelo método destilação do vinho e medição por areometria. Efectuou-se também a correcção para a temperatura de 20°C (Método OIV-MA-AS312-01B).

Extracto seco

O extracto seco foi determinado indirectamente a partir da densidade do vinho sem álcool (Método OIV-MA-AS2-03B).

Acidez Total

A acidez total foi determinada por titulação com NaOH na presença do indicador azul de bromotimol, após a eliminação do dióxido de carbono da amostra de vinho (Método OIV-MA-AS313-01).

Acidez Volátil

Para a determinação deste parâmetro eliminou-se o dióxido de carbono da amostra e efectuou-se uma destilação por arrastamento de vapor. O destilado obtido foi titulado com uma solução de NaOH na presença de fenolftaleína (Método OIV-MA-AS313-02).

pH

Este parâmetro foi medido por potenciometria com base na diferença de potencial entre dois eléctrodos imersos na amostra, sendo que um eléctrodo apresenta um potencial em função do líquido no qual está imerso, enquanto que o outro tem um potencial fixo e conhecido (eléctrodo de referência) (Método OIV-MA-AS313-15).

Dióxido de Enxofre

O sulfuroso livre foi determinado por titulação potenciométrica com iodo. O sulfuroso combinado foi também determinado por titulação potenciométrica com iodo, após hidrólise alcalina. O sulfuroso total corresponde à soma do sulfuroso livre e combinado (Método OIV-MA-AS323-04B).

Pesquisa Fermentação Maloláctica

A verificação da ocorrência da fermentação maloláctica foi efectuada nos vinhos tintos por cromatografia ascendente em papel, usando como solvente uma mistura de butanol e ácido acético adicionada de azul de bromofenol (Michod, 1959).

Substâncias Redutoras

Clarificação das amostras para eliminação de substâncias interferentes efectuada com acetato de chumbo neutro (vinhos tintos) ou com ferrocianeto de zinco (vinhos brancos). Doseamento, por iodometria, do ião cúprico em excesso, após reacção do vinho clarificado com uma quantidade determinada de licor cupro-alcalino (Método OIV-MA-AS311-01A).

III.1.2. Polissacáridos Totais

O teor em polissacáridos totais nos vinhos foi determinado por um método espectrofotométrico desenvolvido anteriormente por Segarra *et al.* (1995). O método consiste, numa primeira fase, na separação/isolamento dos polissacáridos por acção de etanol. A determinação do teor em polissacáridos totais foi efectuada pelo método do fenol-sulfúrico (método colorimétrico).

III.1.3. Características cromáticas, antocianinas totais e índice de fenóis totais

Estes parâmetros foram obtidos a partir da leitura da absorvância a diferentes comprimentos de onda, de acordo com o método descrito por Somers e Evans (1977).

A intensidade e tonalidade da cor, nos vinhos tintos, foram determinadas a partir da leitura das absorvâncias a 420, 520 e 620 nm. Para os vinhos brancos, foi apenas medida a absorvância a 420 nm.

O teor em antocianinas totais foi determinado em vinhos tintos, a partir da medição da absorvância a 520 nm após acidificação das amostras (pH<1).

O índice de fenóis totais foi obtido para todos os vinhos através da leitura da absorvância a 280 nm.

III.1.4. Composição Mineral

A composição mineral dos vinhos foi determinada com recurso ao espectrómetro de massa com plasma acoplado por indução (ICP-MS) *Perkin Elmer SCIEX Elan 9000*, constituído por *cross-flow nebulizer*, câmara de atomização do tipo *Scott* em *Ryton*, cones de níquel, bomba peristáltica com quatro canais modelo *Gilson* e autoamostrador *Perkin-Elmer AS-93 Plus* protegido por câmara de fluxo laminar classe 100 (*Max Petek Reinraumtechnik*). O controlo do sistema analítico foi feito pelo *Software Elan 6100 Windows NT* (versão 2.4). As condições operatórias do equipamento de ICP-MS, encontram-se na **tabela 7**.

Tabela 7 – Condições operatórias do equipamento de ICP-MS.

Parâmetro instrumental	Definição
Potência RF	1200 W
Fluxo de árgon de arrefecimento	15 L/min
Fluxo de árgon do nebulizador	0,94 – 0,98 L/min
Fluxo de árgon auxiliar	1,5 L/min
Fluxo de admissão de solução	1,0 mL/min

Os parâmetros instrumentais utilizados na determinação da composição mineral estão apresentados na **tabela 8**.

Esta técnica foi aplicada de acordo com o protocolo descrito por Catarino *et al.* (2006b), após diluição 1:10 das amostras com água desionizada.

Para a determinação da composição mineral das amostras de vinhos utilizaram-se soluções padrão monoelemento de Be, Co e In, 1000 mg/L (*Merck*); solução padrão multielemento com Mg, Cu, Rh, Cd, In, Ba, Ce, Pb e U 10 µg/L (*Perkin-Elmer*) e ácido nítrico (HNO₃) concentrado ultrapuro *Ultrex II 70% (v/v)* (*J.T. Baker*).

Tabela 8 – Parâmetros instrumentais do equipamento de ICP-MS na análise da composição mineral.

Parâmetro instrumental	Definição
Potência RF	1200 W
Caudal de admissão da amostra	0,85 mL/min
Caudal de árgon do nebulizador	0,85 – 0,95 L/min
Tempo de permanência	50 ms
Varrimentos por leitura	6
Leituras por réplica	1
Réplicas	1
Tempo por leitura	67 s

A calibração do equipamento foi efectuada com uma solução padrão com 30 elementos (Li, Be, Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Ag, Cd, In, Cs, Ba, Hg, Tl, Pb, Bi, U) 10 mg/L (*Perkin-Elmer*). Para os padrões internos, Rh e Re, utilizaram-se soluções padrão monoelemento de Rh e Re 1000 mg/L (*Merck*).

Através do varrimento total das gamas de massa, obteve-se um espectro de massa completo ($m/z = 6-240$, omitindo as gamas de massa de 16–18; 40, 41, 211–229). As interferências isobáricas foram automaticamente corrigidas pelo *Software* do equipamento.

III.1.5. Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

III.1.5.1. Preparação das amostras para a determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

A preparação das amostras de vinho para a determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ inclui várias etapas: digestão por microondas de alta pressão (HPMW), separação de Sr e de Rb por cromatografia de permuta iónica e filtração da fracção de eluição com Sr.

Digestão das amostras de vinhos por HPMW

Nesta etapa efectuou-se a mineralização das amostras, de modo a eliminar a influência negativa da matéria orgânica na separação cromatográfica de Sr e de Rb.

Na mineralização das amostras, foi utilizado o digestor de microondas de alta pressão *Milestone ETHOS Plus Microwave Labstation*, equipado com um rotor monobloco de alta pressão *Milestone HPR- 1000/6m* com seis posições (sistema fechado, pressão máxima de operação de 100 bar) com vasos de *Teflon TFM*, um dos quais usado para controlo de temperatura durante a operação. O programa de forno utilizado na digestão das amostras encontra-se na **tabela 9**.

A digestão das amostras foi aplicada com base no procedimento descrito por Catarino *et al.* (2010), tendo sido efectuadas algumas adaptações. Em cada vaso, colocaram-se 2 mL de vinho, 2 mL de peróxido de hidrogénio (*Trace Select 30% (v/v), Fluka*) e 4 mL de água ultrapura, com a ordem indicada. No total, introduziram-se 8 mL em cada vaso, visto ser o volume mínimo necessário para a leitura do sensor de temperatura. Em cada utilização do digestor de microondas, preparou-se um branco de digestão para controlo de contaminações (2 mL de peróxido de hidrogénio e 6 mL de água

ultrapura). No fim de cada digestão, os vasos foram descontaminados, através da introdução de 10 mL de ácido nítrico bidestilado a 5% (v/v) e da repetição do programa.

Tabela 9 – Programa de forno utilizado na digestão das amostras por HPMW.

Etapa	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Energia (W)
I	8,5	100	800
II	5,0	100	800
III	8,5	180	800
IV	10,0	180	1000
V	40,0	Ventilação	

Separação cromatográfica de Sr e de Rb

A separação cromatográfica de Sr e de Rb foi efectuada, de acordo com o protocolo descrito por Castro (2015), em colunas de cromatografia *HIPEX Duran* (12 mm de diâmetro interno e 200 mm de altura de leito) com a resina de permuta catiónica *Dowex 50W-X8/400* (*Sigma-Aldrich*). Após lavagem e tratamento da resina, esta foi colocada na coluna até atingir a altura de 13 cm, permanecendo assim durante a noite de modo a garantir o completo empacotamento da resina. De seguida, iniciou-se a separação cromatográfica que é composta por quatro etapas: activação/pré-tratamento da resina, condicionamento da resina, preparação/diluição da amostra e etapas de eluição. O esquema das etapas envolvidas na separação cromatográfica encontra-se na **figura 8**. Na etapa de preparação da amostra, acertou-se o pH das amostras digeridas (8 mL) com uma solução de EDTA 0,1 M (pH 7,0), apresentando-se os volumes usados, bem como o volume final das amostras diluídas, no **anexo 1**.

No tratamento inicial da resina foi utilizada a solução HCl 2 N. Nas diferentes etapas de eluição, foram utilizadas, por ordem de adição, as soluções seguintes: NH₃ 10% (v/v), EDTA 0,1 M (pH 7,0), EDTA 0,02 M (pH 5,5), EDTA 0,05 M (pH 7,0) e HNO₃ 3 M. Estas soluções foram preparadas a partir dos reagentes seguintes: ácido clorídrico, HCl 32% (v/v) (*Merck*); ácido etilenodinitrilotetraacético, sal dissódico dihidratado (EDTA) *Triplex III p/ análise* (*Merck*); amoníaco, NH₃ 25% (v/v) (*Merck*) e ácido nítrico bidestilado concentrado ultrapuro, HNO₃ 65% (v/v) (*Sigma-Aldrich*).

Filtração

De modo a evitar/minimizar a deposição de EDTA no equipamento de ICP-MS, as fracções de eluição com Sr foram acidificadas a 1% com ácido nítrico bidestilado e colocadas no frigorífico durante 24 horas. Posteriormente, efectuou-se a filtração destas amostras com um filtro de seringa *Acrodisc PVDF* 0,45 µm com 25 mm de diâmetro.

III.1.5.2. Determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

Após preparação das amostras, a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ foi determinada por ICP-MS de acordo com o método descrito por Martins *et al.* (2014). Na **tabela 10** apresentam-se os parâmetros instrumentais utilizados na determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$.

Na calibração analítica, foi utilizada a solução padrão de SrCO_3 (50 $\mu\text{g/L}$), preparada a partir do material de referência certificado *NIST SRM 987* (SrCO_3). O controle de estabilidade do equipamento foi efectuado periodicamente também com esta solução.

Todas as amostras foram analisadas em duplicado.

Tabela 10 – Parâmetros instrumentais do equipamento de ICP-MS na análise da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$.

Parâmetro instrumental	Definição
Modo de varrimento	<i>Peak hopping</i>
Canais MCA	1
Tempo de permanência	30 ms (^{86}Sr)
	35 ms (^{87}Sr)
	20 ms (^{88}Sr)
Varrimentos por leitura	500
Leituras por réplica	1
Réplicas	3
Tempo por leitura	247 s

A água ultrapura (condutividade < 0,1 $\mu\text{S/cm}$) utilizada na preparação de soluções e na lavagem do material foi produzida pelo equipamento *Seralpur Pro 90 CN*.

O ácido nítrico, qualidade analítica (diversas marcas), foi purificado por bidestilação, utilizando o sistema de destilação de ácidos por infravermelho *Berghof BSB-939-IR*.

O material usado (propileno e *Teflon PFA*) foi imerso numa solução de HNO_3 20% (v/v) durante 24 horas e enxaguado com água ultrapura, com vista à descontaminação.

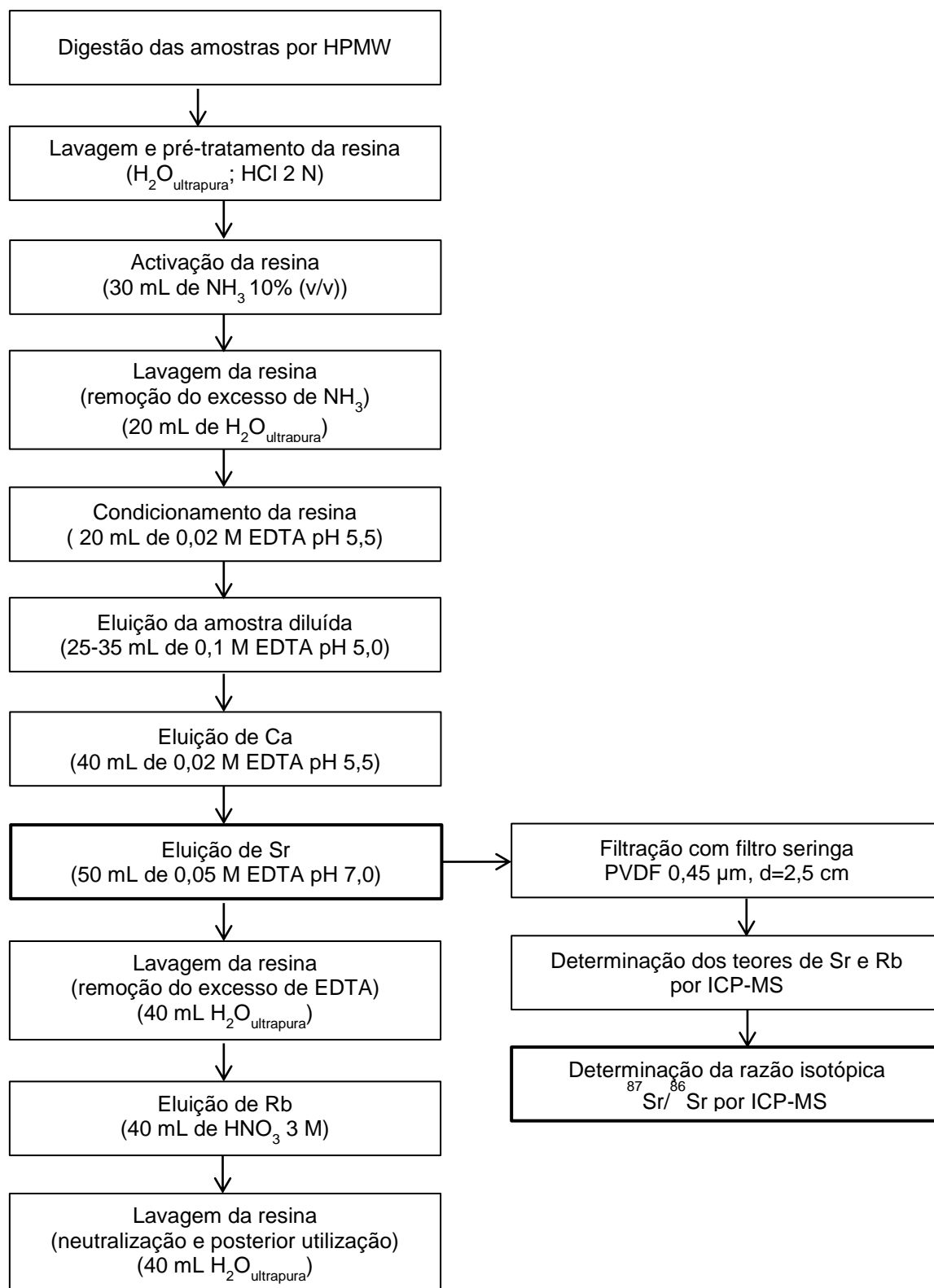


Figura 8 – Esquema do procedimento de preparação de amostras para determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ por ICP-MS.

III.2. Preparação e caracterização da membrana de nanofiltração

III.2.1. Preparação da membrana

A membrana utilizada foi preparada pelo método de inversão de fases como referido anteriormente (Kunst e Sourirajan, 1970).

Inicialmente preparou-se uma solução polimérica constituída por 17% de acetato de celulose (*Sigma-Aldrich*), 30% de formamida ($\geq 99,5\%$, *Sigma-Aldrich*) e 53% de acetona (99,7%, *Labchem*). Colocou-se o acetato de celulose dentro de um frasco, adicionou-se a formamida e, por fim, a acetona visto ser a substância mais volátil. O frasco foi fechado, selado com fita adesiva e posto a agitar à temperatura ambiente num agitador de braços *P-Selecta*, *Vibromatic* a uma velocidade de 550 rpm durante algumas horas até se obter uma solução perfeitamente homogénea.

De seguida, procedeu-se à limpeza do vidro e da faca utilizados no espalhamento da solução polimérica com acetona. A faca foi então colocada na zona superior do vidro com a ranhura calibrada virada para o exterior. Posteriormente, a solução polimérica foi colocada no interior da faca numa quantidade suficiente para cobrir o vidro. A faca foi arrastada ao longo do vidro de modo a obter-se um filme polimérico de espessura fixa. Este movimento deve ser relativamente rápido, sem alterações de velocidade e com a faca sempre na mesma direcção. Após o espalhamento da solução, iniciou-se a contagem do tempo de evaporação (30 segundos). Passado este tempo, a placa de vidro com o filme polimérico foi imersa num recipiente com água desionizada (condutividade inferior a $1 \mu\text{S}/\text{cm}$) e gelo a uma temperatura entre 0 e 3°C . É de referir que o gelo não deve contactar com o filme polimérico, tendo-se usado uma folha de acetato para o afastar do filme. Após 1 a 2 horas de imersão, o filme foi retirado do vidro, tendo-se identificado na membrana a face activa da mesma, correspondente à face superior. Por fim, verificou-se o estado da membrana de modo a detectar irregularidades e guardou-se a mesma em água desionizada no frigorífico até à sua utilização.

De seguida, efectuou-se o *annealing* para reduzir o tamanho dos poros e assim obter uma membrana de NF. Esta etapa consiste na imersão da membrana num banho de água desionizada a 95°C durante 11 minutos. De modo a evitar algum movimento indesejado da membrana, colocou-se a mesma entre duas caixas de *Petri* e, sobre estas, um *Erlenmeyer* com água.

III.2.1.1. Material

Para a preparação da membrana foi necessário uma placa de vidro rectangular, uma faca metálica com uma ranhura calibrada (0,25 mm), um tabuleiro de plástico, uma folha de acetato e um cronómetro.

III.2.2. Caracterização da membrana

Esta etapa inicial permite o conhecimento dos parâmetros relacionados com a estrutura da membrana e com as suas características intrínsecas.

III.2.2.1. Permeabilidade hidráulica

O parâmetro mais comum para a caracterização de uma membrana é o coeficiente de permeabilidade hidráulica (L_p), que avalia a capacidade de permeação à água pura. Este parâmetro pode ser obtido através da representação gráfica dos fluxos de permeação à água pura em função da pressão transmembranar, correspondendo ao declive da recta de acordo com a **equação 13**.

$$J_{p, \text{ água pura}} = L_p \cdot \Delta P \quad (13)$$

III.2.2.2. Rejeição a solutos de referência

A membrana é também caracterizada pela sua selectividade, sendo esta avaliada através da rejeição a solutos de referência. Neste trabalho os solutos usados foram cloreto de sódio (anidro, 99,9%, *VWR Prolabo*), sulfato de sódio (anidro, 99%, *Scharlan*), sulfato de cálcio (anidro, 99%, *Sigma-Aldrich*) e glucose (D(+)-Glucose Anidra, *Panreac*). Através do coeficiente de rejeição aparente (f_A) é possível avaliar a capacidade de separação da membrana, **equação 14**. Onde C_{Aa} e C_{Ap} são as concentrações de soluto na alimentação e no permeado, respectivamente.

$$f_A = \frac{C_{Aa} - C_{Ap}}{C_{Aa}} \quad (14)$$

Tendo em conta que junto à membrana a concentração de soluto é superior à concentração no seio da alimentação, definiu-se o coeficiente de rejeição intrínseco, **equação 15**, onde C_{Am} é a concentração do soluto junto à membrana.

$$f'_A = \frac{C_{Am} - C_{Ap}}{C_{Am}} \quad (15)$$

É de notar que esta concentração é difícil de obter experimentalmente, sendo geralmente obtida por modelos de transporte (Minhalma, 2001).

III.2.3. Parâmetros analíticos

De modo a determinar os coeficientes de rejeição aos solutos de referência, determinou-se a concentração das amostras recolhidas através de dois métodos analíticos. A concentração em sais foi determinada a partir da sua condutividade, enquanto que a concentração em glucose foi obtida através de uma análise ao carbono orgânico total (COT).

III.2.3.1. Condutividade

Para a medição da condutividade utilizou-se um condutivímetro *Crison GLP 32*, sendo todas as medidas efectuadas a 25°C. De modo a estabelecer uma relação entre a condutividade e a concentração de cada um dos sais, efectuaram-se rectas de calibração. Para tal, prepararam-se cinco soluções padrão de cada sal com concentrações entre 0 e 300 ppm, tendo-se registado os valores de condutividade correspondentes.

III.2.3.2. Carbono orgânico total

O carbono orgânico total (COT) foi determinado com um analisador de carbono *Dohrmann*, modelo 3300 constituído por um forno, um detector de infravermelho e um integrador. O erro associado às medições corresponde ao maior valor entre 2 ppm de carbono e 2% do resultado analítico obtido.

O procedimento inicia-se com a abertura da válvula do oxigénio e o ajuste da pressão para 3 bar. De seguida, liga-se o aquecimento do forno até se atingir a temperatura de 700°C. Antes da utilização do aparelho, deve-se efectuar a sua calibração. Esta etapa inicia-se com a injeção de 40 µL de solução padrão de hidrogenoftalato de potássio 2000 ppm de carbono numa barquinha com lâ de vidro e com a sua inserção no forno. Todo o carbono orgânico da amostra é convertido em CO₂, sendo este dirigido para o detector de infravermelho, que envia um sinal ao integrador. Obtém-se então a concentração da amostra que deverá ser de 2000 ± 40 ppm de carbono. Caso contrário, o procedimento deverá ser repetido.

Após a calibração do equipamento, efectua-se a injeção da amostra a analisar do modo descrito anteriormente. Neste caso, a concentração da amostra é obtida por comparação com o valor resultante da análise da solução padrão. A concentração final de carbono de cada amostra é dada pela diferença entre o valor obtido para a amostra e o valor obtido para o branco. Este último corresponde à concentração de carbono obtida para a água desionizada utilizada nas soluções aquosas.

III.3. Descrição da instalação de nanofiltração

A NF foi efectuada no equipamento comercial *Celfa P-28*, apresentado na **figura 9**.

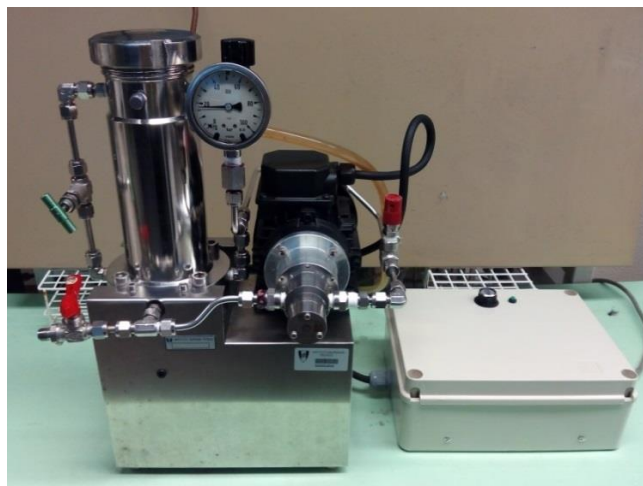


Figura 9 – Instalação de nanofiltração *Celfa P-28*.

Esta instalação é constituída por um tanque de alimentação, um permutador de calor, uma bomba de circulação, um módulo de membranas planas, um potenciómetro para regulação do caudal de circulação, uma válvula para o escoamento do concentrado, um manómetro e uma válvula para regulação da pressão, de acordo com a **figura 10**.

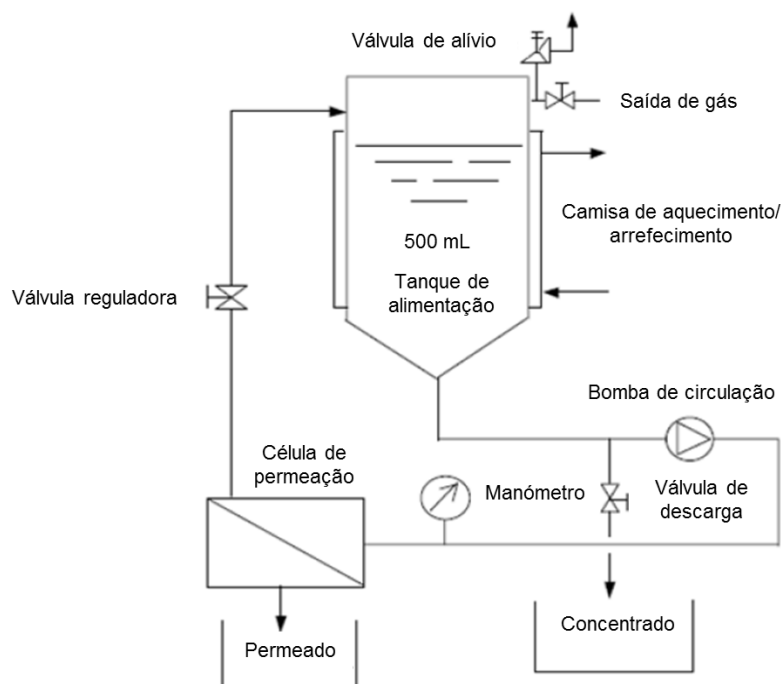


Figura 10 – Representação esquemática da instalação de nanofiltração *Celfa P-28*.

O tanque de alimentação é de aço inoxidável 316, tem capacidade de 500 mL e está revestido por uma camisa de transferência de calor, de modo a manter a alimentação a uma determinada temperatura. A leitura da temperatura é feita através da imersão de um termómetro no tanque de alimentação.

A bomba de circulação garante a circulação da alimentação e a pressão do sistema. Enquanto que o caudal de circulação é controlado pelo potenciómetro junto à bomba, a pressão do sistema é regulada pela válvula de controlo de pressão situada após a célula de permeação. A leitura da pressão é feita no manómetro que precede a célula de permeação. A pressão do sistema e o caudal de circulação são regulados em simultâneo através do potenciómetro e da válvula de controlo de pressão.

A área superficial da membrana é de $25,52 \text{ cm}^2$ (Minhalma, 2001).

III.4. Ensaios de nanofiltração

A montagem da membrana foi efectuada sobre uma folha de papel de filtro de modo a proteger a membrana. Antes de iniciar os ensaios é necessário efectuar a compactação da membrana para eliminar quaisquer efeitos que possam ocorrer, devido à pressão a que esta fica sujeita e que possam influenciar a não reproductibilidade do fluxo de permeado. Esta etapa consiste na permeação de água desionizada a uma pressão cerca de 20% superior à pressão de trabalho durante 2 a 3 horas.

No arranque do equipamento, a bomba de circulação é ligada após o enchimento do tanque devendo começar a bombear a baixos caudais e pressões de modo a não danificar a membrana. O caudal é então regulado com o potenciómetro e a pressão com a válvula de controlo de pressão sem

submeter a membrana a variações bruscas das condições operatórias. Após o sistema entrar em funcionamento, deve-se esperar cerca de 10 minutos para a estabilização das condições operatórias, isto é, caudal de circulação, pressão, temperatura, concentrações da corrente de alimentação e da corrente de permeado. Após a recolha das amostras a paragem do sistema deve ser efectuada com a diminuição gradual do caudal de circulação e da pressão antes de desligar a bomba, de modo a não danificar a membrana.

Entre cada ensaio, lavou-se a membrana até se recuperar 90% do fluxo inicial.

As amostras foram mantidas no frigorífico a 2°C, entre a recolha e a análise, sendo analisadas à temperatura ambiente.

III.5. Modo de operação e Recolha de amostras

III.5.1. Soluções-modelo

De modo a interpretar correctamente os resultados obtidos relativamente aos vinhos, efectuou-se a permeação de soluções-modelo. Este estudo foi desenvolvido em duas etapas, sendo que na primeira estudou-se a permeação do etanol em soluções hidroalcolólicas e, na segunda, avaliou-se a rejeição ao etanol, ao ácido tartárico e ao Sr em soluções multicomponentes.

Na preparação das soluções-modelo usaram-se etanol (96% (v/v), S.D.C.), ácido tartárico (99,5%, *Merck*), Sr (1000 mg/L em 0,5M HNO₃, *Reagecon*) e NaOH (≥ 98,5%, *Sigma-Aldrich*).

III.5.1.1. Soluções hidroalcolólicas

Na primeira etapa estudaram-se soluções binárias de água e etanol, através da determinação do coeficiente de rejeição ao etanol. Nesta fase foram permeadas soluções com diferentes percentagens volúmicas de etanol, nomeadamente 8, 10, 12, 14 e 16% (v/v). Foram efectuadas duas séries de ensaios, ocorrendo a primeira a 6 bar com um caudal de recirculação de 1,4 L/min e a segunda a 15 bar com um caudal de recirculação de 2,1 L/min. Em cada ensaio, foram introduzidos no tanque 500 mL de solução.

A concentração destas soluções em etanol foi determinada pelo COT tendo-se recolhido cerca de 10 mL de permeado, da alimentação no início e no fim da operação e da água utilizada na preparação das soluções. O coeficiente de rejeição foi determinado pela **equação 14**.

Efectuou-se também a medição dos fluxos de permeado.

III.5.1.2. Soluções quaternárias

Nesta etapa avaliou-se a rejeição ao Sr, ao ácido tartárico e ao etanol através da permeação de três soluções com diferentes concentrações de etanol, nomeadamente 9, 12 e 16% (v/v). Cada uma das soluções apresentava 0,5 mg/L de Sr, 3 g/L de ácido tartárico e pH de 3,5, sendo estas concentrações comuns no vinho. O acerto do pH foi feito com uma solução de NaOH 10 M.

Estes ensaios foram efectuados à pressão de 15 bar com um caudal de recirculação de 2,1 L/min, sendo que em cada ensaio foram introduzidos no tanque 500 mL de solução. Recolheram-se cerca de 40 mL de permeado e de alimentação no início e no fim da operação, de modo a determinar as concentrações de etanol e de ácido tartárico por FTIR e a de Sr por ICP-MS, em cada uma das amostras recolhidas.

Os coeficientes de rejeição ao etanol, ao ácido tartárico e ao Sr foram determinados pela **equação 14**. Efectuou-se ainda a medição dos fluxos de permeado nos ensaios realizados.

III.5.2. Vinhos

Efectuou-se a permeação de três vinhos brancos e três vinhos tintos de diferentes DOP portuguesas – Óbidos, Palmela e Dão. Esta operação ocorreu a 17 bar com um caudal de recirculação de 2,1 L/min. Em cada ensaio, colocaram-se no tanque 500 mL do vinho a permear, tendo-se recolhido amostras de 60 mL de permeado e de alimentação no início e no fim da operação.

As fracções de NF dos vinhos foram avaliadas através de caracterização físico-química geral, determinação de polissacáridos totais, características cromáticas, antocianinas totais e índice de fenóis totais, composição mineral e razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. A caracterização físico-química geral foi efectuada por FTIR e os restantes parâmetros foram determinados pelos métodos descritos anteriormente. Os coeficientes de rejeição foram determinados pela **equação 14**.

A medição do fluxo de permeado foi efectuada em todos os ensaios.

III.6. Tratamento estatístico dos resultados

III.6.1. Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

Os resultados relativos à razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dos vinhos e respectivas fracções de NF foram tratados estatisticamente com recurso ao *Software Statistica 7* (StatSoft, Inc., Tulsa, Ok 74104, USA) por aplicação da *One-Way ANOVA* (análise de variância com um factor). As diferenças observadas foram testadas através de uma análise de variância seguida pelo teste de *Fisher Least Significant Difference* (LSD). A significância foi testada a $\alpha=0,05$ ($p<0,05$).

De modo a verificar a aplicabilidade dos testes paramétricos, efectuaram-se os testes de homogeneidade de variâncias e de distribuição normal.

IV. RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÃO

IV.1. Caracterização da membrana de nanofiltração

IV.1.1. Permeabilidade hidráulica

A permeabilidade hidráulica foi determinada a partir da representação gráfica do fluxo de permeado de água desionizada em função da pressão transmembranar, após a sua compactação. Os ensaios foram efectuados com o caudal de recirculação de 1,4 L/min a 2, 3, 4, 5 e 6 bar. Os resultados obtidos foram representados graficamente, tendo-se obrigado a recta a passar pela origem.

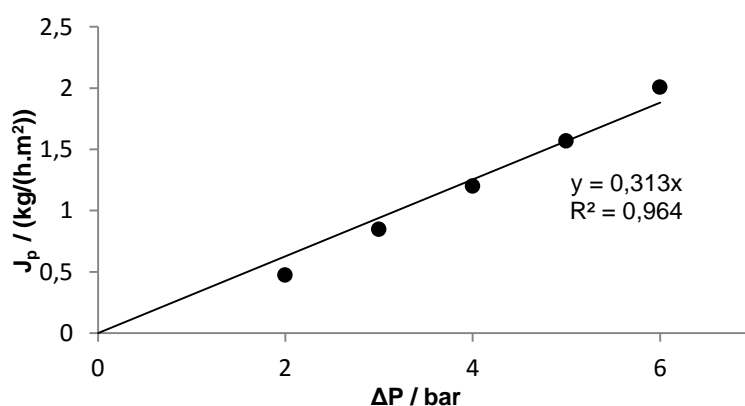


Figura 11 – Representação do fluxo de permeado de água desionizada (J_p) em função da pressão (ΔP).

A partir da **figura 11** obteve-se um valor de $0,313 \text{ kg}/(\text{h} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{bar})$ para a permeabilidade hidráulica, correspondente ao declive da recta.

IV.1.2. Rejeição a solutos de referência

A membrana foi caracterizada a partir da rejeição aos sais cloreto de sódio, sulfato de sódio e sulfato de cálcio e à glucose, estando os resultados obtidos apresentados na **tabela 11**. É de referir que as concentrações da alimentação e permeado foram obtidas a partir da recta de calibração correspondente a cada soluto de referência, **anexo 2**. Estes ensaios realizaram-se à pressão de 6 bar com caudal de recirculação de 1,4 L/min.

Tabela 11 – Coeficientes de rejeição aparente para os solutos de referência.

	Concentração / ppm	Rejeição aparente / %
Sais		
NaCl	300	90,3
Na ₂ SO ₄	300	95,3
CaSO ₄	300	92,8
Compostos orgânicos		
Glucose	300	90,3

Através dos resultados verifica-se que a membrana apresenta maior rejeição aparente aos sais divalentes do que ao NaCl (monovalente) e elevada rejeição aparente à glucose, comportamento característico das membranas de NF.

Tendo em conta o volume da amostra de permeado recolhido em relação ao volume da alimentação, pode dizer-se que se trabalhou em recirculação total e que não houve concentração da alimentação.

IV.2. Caracterização físico-química geral dos vinhos

Os resultados da análise sumária dos vinhos utilizados nos ensaios de NF estão apresentados na **tabela 12**.

Tabela 12 – Características físico-químicas dos vinhos.

Amostra	Óbidos V.Branco	Palmela V.Branco	Dão V.Branco	Óbidos V.Tinto	Palmela V.Tinto	Dão V.Tinto
Massa volúmica 20°C (g/mL)	0,9885	0,9891	0,9889	0,9937	0,9949	0,9931
Teor alcoólico 20°C (% v/v)	13,4	12,6	13,0	12,4	10,8	12,7
Extracto seco (g/L)	20,1	19,0	19,8	30,5	28,7	30,0
Acidez total (g/L) ácido tartárico	4,4	5,6	5,7	5,3	5,1	4,8
Acidez volátil (g/L) ácido acético	0,45	0,35	0,38	0,72	0,58	0,60
pH	3,48	3,05	3,27	3,73	3,68	3,68
Sulfuroso livre (mg/L)	29	20	40	36	27	30
Sulfuroso total (mg/L)	103	75	95	58	40	95
Fermentação maloláctica	---	---	---	Positiva	Positiva	Positiva
Substâncias redutoras (g/L)	0,7	1,7	1,6	1,7	0,2	2,1

IV.2.1. Polissacáridos Totais

A concentração em polissacáridos totais foi determinada em todos os vinhos estudados, estando apresentada na **tabela 13**.

Tabela 13 – Concentração em polissacáridos totais nos vinhos.

Amostra	Óbidos V.Branco	Palmela V.Branco	Dão V.Branco	Óbidos V.Tinto	Palmela V.Tinto	Dão V.Tinto
Concentração em polissacáridos (mg/L)	319	243	337	758	914	1125

IV.2.2. Características cromáticas, antocianinas totais e índice de fenóis totais

Nos vinhos tintos, determinaram-se a intensidade e tonalidade da cor, a concentração em antocianinas totais e o índice de fenóis totais. Nos vinhos brancos, foram determinados o índice de fenóis totais e a absorvância a 420 nm. Os resultados obtidos encontram-se na **tabela 14**.

Tabela 14 – Características cromáticas, antocianinas totais, índice de fenóis totais nos vinhos.

Amostra	Óbidos V.Branco	Palmela V.Branco	Dão V.Branco	Óbidos V.Tinto	Palmela V.Tinto	Dão V.Tinto
Intensidade (u.a.)	---	---	---	10,100	8,990	8,590
Tonalidade (u.a.)	---	---	---	0,662	0,680	0,802
Concentração em antocianinas totais (mg/L)	---	---	---	301	252	236
Índice de fenóis totais (u.a.)	8	7	7	51	47	57
Absorvância 420 nm (u.a)	0,095	0,065	0,069	---	---	---

IV.2.3. Composição Mineral

Nas **tabelas 15 e 16** estão apresentadas as concentrações relativas à análise da composição mineral dos vinhos com os respectivos desvios-padrão.

De um modo geral e para cada elemento, observa-se que a concentração nos vinhos tintos é superior, sendo evidente no caso dos elementos presentes em maiores concentrações como Mg, Mn, Rb, Sr e Ba. Esta tendência poderá estar relacionada com a tecnologia de vinificação dos vinhos tintos, em que ocorre maceração das partes sólidas das uvas (Catarino *et al.*, 2006a).

Numa análise por DOP, foram observados valores superiores no Dão para Li, Mn, Rb, Sr e Cs. Pelo contrário, Na e Ni apresentam valores inferiores para esta DOP. Os elementos Na e Fe estão presentes em concentrações superiores na DOP Óbidos, sendo também para esta DOP que Cu apresenta valores mais baixos. Por fim, o Al aparece em maior concentração na DOP Palmela.

De acordo com dados publicados, o Be está presente no vinho em concentrações inferiores a 5 µg/L, confirmando os resultados obtidos (Greenough *et al.*, 1997; Thiel *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2006a).

O teor de Al nos vinhos é geralmente inferior a 2 mg/L, estando de acordo com os teores obtidos (inferiores a 0,8 mg/L) (Jos *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2006a).

A concentração de V obtida é inferior ao valor médio de 50 µg/L referido por Catarino *et al.* (2008a), estando de acordo com os valores obtidos por Greenough *et al.* (1997) e Catarino *et al.* (2006a).

De acordo com a bibliografia encontrada, o Mn encontra-se normalmente nos vinhos numa concentração inferior a 3 mg/L, estando em concordância com as concentrações obtidas (Jos *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2006a).

Tabela 15 – Composição mineral dos vinhos (LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação; * - Resultado não obtido).

Elemento	Concentração (µg/L)					
	Óbidos V.Branco	Palmela V.Branco	Dão V.Branco	Óbidos V.Tinto	Palmela V.Tinto	Dão V.Tinto
Li	2,0 (0,1)	6,8 (0,1)	7,5 (0,2)	9,94 (0,09)	3,13 (0,08)	31,6 (0,5)
Be	0,23 (0,03)	0,58 (0,04)	0,49 (0,08)	0,53 (0,04)	0,12 (0,02)	1,8 (0,1)
Na	17564 (27)	27201 (470)	4869 (152)	17159 (83)	28924 (687)	4595 (106)
Mg	46162 (97)	38258 (425)	62619 (1774)	101735 (1818)	87802 (1997)	87521 (1442)
Al	220 (3)	778 (3)	68 (4)	149 (3)	313 (41)	198 (5)
V	0,72 (0,02)	*	*	0,13 (0,02)	*	*
Mn	413,6 (0,3)	371 (2)	1543 (37)	3029 (65)	938 (10)	3068 (9)
Fe	4033 (23)	418 (1)	*	3824 (126)	3678 (59)	1244(4)
Co	2,76 (0,02)	2,27 (0,03)	1,10 (0,06)	1,56 (0,09)	1,93 (0,07)	1,73 (0,03)
Ni	22 (2)	16,9 (0,3)	10,0 (0,6)	18,0 (0,4)	14,3 (0,5)	12 (1)
Cu	35,0 (0,4)	225 (3)	189 (7)	39,4 (0,4)	48 (5)	175,4 (0,5)
Zn	978 (2)	1217 (7)	695 (14)	443 (1)	1609 (34)	565 (24)
Ga	2,37 (0,02)	2,169 (0,004)	3,2 (0,1)	4,34 (0,09)	2,92 (0,07)	3,3 (0,3)
As	1,54 (0,08)	2,47 (0,06)	0,85 (0,06)	0,79 (0,07)	1,54 (0,02)	0,65 (0,01)
Se	1,00 (0,08)	0,58 (0,03)	0,32 (0,08)	0,7 (0,2)	0,98 (0,05)	0,55 (0,07)
Rb	1774 (9)	1010 (5)	3269 (80)	2268 (66)	1865 (21)	5884 (28)
Sr	99,8 (0,6)	194,1 (0,3)	239 (6)	431 (10)	256 (2)	692 (8)
Y	0,051 (0,003)	0,394 (0,002)	0,0543 (0,0007)	0,111 (0,002)	0,0387 (0,0004)	0,41 (0,02)
Ag	< 0,006 (LD)	0,4 (0,1)	0,128 (0,008)	< 0,006 (LD)	0,16 (0,02)	0,101 (0,003)
Cd	0,327 (0,006)	0,34 (0,08)	0,15 (0,02)	0,15 (0,01)	0,22 (0,01)	0,246 (0,001)
In	0,012 (0,004)	0,030 (0,009)	0,012 (0,004)	0,004 (0,001)	0,0408 (0,0009)	0,01207 (0,00009)

Tabela 16 – Composição mineral dos vinhos (LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação; * - Resultado não obtido) – continuação.

Elemento	Concentração (µg/L)					
	Óbidos V.Branco	Palmela V.Branco	Dão V.Branco	Óbidos V.Tinto	Palmela V.Tinto	Dão V.Tinto
Sn	0,853 (0,022)	3,43 (0,05)	0,21 (0,04)	*	0,54 (0,03)	1,32 (0,06)
Sb	0,806 (0,026)	0,69 (0,02)	0,259(0,006)	0,246 (0,008)	0,264 (0,008)	0,22 (0,02)
Cs	5,95 (0,05)	4,85 (0,02)	24,6 (0,5)	2,584 (0,007)	5,62 (0,03)	80 (2)
Ba	66,4 (0,6)	60,9 (0,1)	107 (1)	402 (6)	86,7 (0,1)	347 (2)
La	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)
Ce	0,01 (0,01)	0,13 (0,02)	0,012 (0,003)	0,039 (0,002)	0,017 (0,004)	0,050 (0,005)
Pr	0,004 (0,002)	0,0204 (0,0004)	0,0030 (0,0004)	0,0114 (0,0009)	0,005 (0,001)	0,0150 (0,0009)
Nd	0,017 (0,002)	0,10 (0,01)	0,01 (0,01)	0,045 (0,001)	0,005 (0,002)	0,05 (0,01)
Sm	0,004 (0,004)	0,023 (0,009)	< 0,0040 (LQ)	0,011 (0,002)	< 0,0040 (LQ)	0,02 (0,01)
Eu	0,010 (0,004)	0,015 (0,002)	0,015 (0,001)	0,054 (0,004)	0,014 (0,004)	0,050 (0,004)
Gd	< 0,0046 (LQ)	0,03(0,01)	< 0,0046 (LQ)	0,119(0,002)	< 0,0046 (LQ)	0,0222 (0,0009)
Tb	< 0,0020 (LQ)	0,0056(0,0009)	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)	0,005(0,002)
Dy	< 0,0041 (LQ)	0,044(0,004)	< 0,0041 (LQ)	0,0109(0,0009)	< 0,0041 (LQ)	0,029 (0,004)
Ho	0,002 (0,001)	0,015 (0,001)	< 0,0020 (LQ)	0,005 (0,001)	< 0,0020 (LQ)	0,0118 (0,0008)
Er	0,008 (0,002)	0,06 (0,01)	< 0,0039 (LQ)	0,010 (0,003)	< 0,0039 (LQ)	0,042(0,006)
Tm	0,0031 (0,0006)	0,0145 (0,0009)	< 0,0019 (LQ)	0,0036 (0,0003)	< 0,0019 (LQ)	0,0106 (0,0007)
Yb	0,022 (0,004)	0,12 (0,01)	0,0052 (0,0008)	0,015 (0,007)	0,0043 (0,0001)	0,0662 (0,0001)
Lu	0,005 (0,0003)	0,025 (0,001)	0,0027 (0,0001)	0,0042 (0,0001)	< 0,0018 (LQ)	0,0133 (0,0008)
Tl	0,357 (0,004)	0,409 (0,002)	0,69 (0,02)	0,30 (0,03)	0,53 (0,01)	1,54 (0,04)
Pb	40,97 (0,09)	48 (1)	5,52 (0,07)	7,377 (0,009)	12,0 (0,1)	11,17 (0,03)
Bi	0,033192 (0,000005)	0,9 (0,6)	0,06 (0,01)	0,05 (0,03)	0,5 (0,3)	0,096 (0,009)

O vinho contém em geral 2 a 20 mg/L de Fe, tendo-se obtido, no entanto, concentrações inferiores no vinho branco da DOP Palmela e no vinho tinto da DOP Dão (Curvelo-Garcia, 1988; González e Peña-Méndez, 2000; Gremaud *et al.*, 2004).

O Co encontra-se no vinho normalmente em teores inferiores a 10 µg/L, corroborando os resultados obtidos (concentração em cobalto inferior a 3 µg/L) (Greenough *et al.*, 1997; Catarino *et al.*, 2006a).

De acordo com dados publicados, a concentração em Ni nos vinhos varia normalmente entre 20 e 30 µg/L, encontrando-se os resultados obtidos ligeiramente abaixo desta gama (10 a 22 µg/L) (Jos *et al.*, 2004; Thiel *et al.*, 2004).

A concentração de Cu nos vinhos varia geralmente entre 100 e 200 µg/L, estando estes valores de acordo com os obtidos (Curvelo-Garcia, 1988; Jos *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2006a). Do ponto de vista técnico e legal, o limite máximo admissível de Cu em vinhos é de 1 mg/L, sendo bastante superior aos valores obtidos (OIV, 2015).

Na generalidade da bibliografia encontrada, o teor de Zn no vinho é inferior a 5 mg/L, corroborando os resultados obtidos (Greenough *et al.*, 1997; González e Peña-Méndez, 2000; Gremaud *et al.*, 2004; Jos *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2006a). O limite máximo admissível de Zn no vinho, do ponto de vista toxicológico é de 5 mg/L, sendo este superior aos teores obtidos (OIV, 2015).

Segundo dados publicados, o teor de As no vinho é geralmente inferior a 20 µg/L, o que está de acordo com os resultados obtidos (Greenough *et al.*, 1997; Jos *et al.*, 2004; Thiel *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2006a). De acordo com a OIV, o limite máximo admissível deste elemento no vinho é de 200 µg/L, valor bastante superior aos determinados (OIV, 2015).

A concentração de Se no vinho é normalmente inferior a 2 µg/L, estando em concordância com os resultados obtidos (Bellanger *et al.*, 1992; Frías *et al.*, 2003).

Nos vinhos estudados, verificou-se que a concentração de Rb variou entre 1010(5) e 5884(28) µg/L. Estes valores são próximos dos relatados na literatura (Greenough *et al.*, 1997; Gremaud *et al.*, 2004; Nicolini *et al.*, 2004; Thiel *et al.*, 2004; Castro, 2015).

No caso do Sr, obtiveram-se as concentrações de 99,8(0,6) µg/L, 194,1(0,3) µg/L e 239(6) µg/L para os vinhos brancos das DOP Óbidos, Palmela e Dão, respectivamente. Como referido, estes valores são inferiores aos vinhos tintos das DOP correspondentes, cujas concentrações obtidas foram de 431(10) µg/L, 256(2) µg/L e 692 (8) µg/L, respectivamente. Estes resultados são próximos dos presentes na literatura (Greenough *et al.*, 1997; Jos *et al.*, 2004; Nicolini *et al.*, 2004; Castro, 2015; Fernandes *et al.*, 2015). Os vinhos da DOP Dão apresentam, para cada tipo de vinho, concentrações em Sr superiores aos das outras DOP. Os teores de Sr em solos das três DOP estudadas foram também determinados, correspondendo o mais baixo à DOP Dão, ao contrário do obtido em vinhos (Martins *et al.*, 2014).

O Cd surge geralmente nos vinhos em teores inferiores a 5 µg/L, o que está de acordo com os valores obtidos (inferiores a 0,5 µg/L) (Greenough *et al.*, 1997; Thiel *et al.*, 2004). O limite máximo admissível deste elemento nos vinhos é de 10 µg/L, valor muito superior aos apresentados (OIV, 2015).

A bibliografia refere teores de Sn nos vinhos até 700 µg/L, embora normalmente o seu valor seja inferior (na ordem de 10 µg/L), estando de acordo com os teores obtidos (Greenough *et al.*, 1997; Nicolini *et al.*, 2004).

O Sb está normalmente presente nos vinhos na concentração de 1 µg/L (Greenough *et al.*, 1997; Thiel *et al.*, 2004). Os teores obtidos para este elemento variam de vinho para vinho, encontrando-se próximos do valor da literatura.

Os teores de Tl em vinhos são normalmente inferiores a 1 µg/L, sendo teores entre 2 e 8 µg/L devidos a contaminação pelos solos, adubos ou emissões atmosféricas de cimenteiras (Greenough *et al.*, 1997; Nicolini *et al.*, 2004; Thiel *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2006a). Entre as concentrações de Tl obtidas, apenas a correspondente ao vinho tinto da DOP Dão é superior, embora ligeiramente, a 1 µg/L.

O Pb está geralmente presente no vinho em concentrações inferiores a 100 µg/L, o que está de acordo com os resultados apresentados (Larsen *et al.*, 2002; Jos *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2006a). De acordo com OIV (2015), o limite máximo admissível para o Pb no vinho é de 150 µg/L, sendo este valor muito superior aos obtidos.

Os lantanídeos apresentam-se em concentrações muito reduzidas, estando na maioria abaixo do limite de quantificação do método. Considere-se que os limites de quantificação apresentados referem-se ao método quantitativo, tendo-se utilizado o método semi-quantitativo na determinação da composição mineral dos vinhos. De qualquer modo, estes resultados encontram-se de acordo com os relatados na bibliografia (Greenough *et al.*, 1997; Nicolini *et al.*, 2004; Thiel *et al.*, 2004; Catarino *et al.*, 2011).

Concluindo, verificou-se que as concentrações dos elementos estão dentro dos valores reportados e que todos os limites legais estabelecidos foram cumpridos.

IV.2.4. Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

De modo a verificar a eficiência da separação cromatográfica de Sr e Rb, determinaram-se as concentrações destes elementos em cada vinho. A razão entre estas concentrações, bem como a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ encontram-se apresentadas na **tabela 17**. De acordo com Martins *et al.* (2014), para razões entre Rb e Sr iguais ou superiores a 4%, poderá ocorrer sobreavaliação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Conclui-se então, que a separação foi bem sucedida em todas as amostras de vinhos.

As razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ para os vinhos estudados encontram-se compreendidas entre 0,7075 e 0,7128. Analisando os resultados, verifica-se que na DOP Dão, a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ é superior às razões das DOP Óbidos e Palmela. Tendo em conta que na DOP Dão os solos são maioritariamente de origem granítica (mais antigos) apresentam tipicamente razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ superiores a 0,710, corroborando os resultados obtidos (Barbaste *et al.*, 2002). Por outro lado, as DOP Óbidos e Palmela caracterizam-se por solos arenosos e argilosos (mais recentes), respectivamente, daí as razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ obtidas serem mais baixas.

Tabela 17 – Razão [Rb]/[Sr] e razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ nas amostras de vinhos após separação cromatográfica de Rb e Sr.

Amostra	[Rb]/[Sr] (%)	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$
Óbidos V.Branco	0,26	0,7075±0,0007 a
Palmela V.Branco	0,18	0,7085±0,0007 a,b
Dão V.Branco	0,15	0,7128±0,0008 c
Dão V.Branco (2)	0,30	
Óbidos V.Tinto	0,20	0,7093±0,0006 b
Palmela V.Tinto	0,12	0,7075±0,0007 a
Dão V.Tinto	0,14	0,7150±0,0008 d
Dão V.Tinto (2)	0,08	

(2) Duplicado efectuado a partir da digestão das amostras.

As razões $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ apresentadas correspondem à média de duas réplicas independentes e respectivo desvio-padrão. Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes ao nível de significância 0,05.

Martins *et al.* (2014), obtiveram razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ superiores para solos na DOP Dão em comparação com os das DOP Óbidos e Palmela, verificando-se uma relação com os resultados apresentados. Acrescenta-se que as razões isotópicas mais baixas correspondem aos solos da DOP Palmela, indicando que estes solos foram desenvolvidos sobre formações rochosas mais recentes. No presente estudo, não foi possível distinguir os vinhos das DOP Óbidos e Palmela através da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$.

Barbaste *et al.* (2002) determinaram a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de um vinho numa zona granítica em Portugal (0,71203±0,00002), estando este valor de acordo com o obtido para o vinho branco da DOP Dão e ligeiramente inferior ao obtido para o vinho tinto da mesma região. Na DOP Douro, caracterizada por xistos, foi publicado o valor de 0,729 para as razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em dois vinhos (Almeida e Vasconcelos, 2004), contudo este valor está acima do intervalo natural de variação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em vinhos apresentado por Rosner (2010). Ainda nesta região, foram reportadas razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em vinhos entre 0,7130 e 0,7175 (Castro, 2015; Fernandes *et al.*, 2015). Em geral, estes valores são superiores aos obtidos até para a DOP Dão, onde seria esperado o contrário, tendo em conta que a DOP Douro é maioritariamente xistosa.

A razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dos vinhos encontra-se também na **figura 12**. A escala apresentada corresponde ao intervalo de variação natural da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ (0,702 – 0,740) referido por Rosner (2010).

No **anexo 3**, encontram-se os resultados do teste LSD para as razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dos vinhos e os respectivos *p-values* para diferenças entre dois valores significativas (cinzento claro) e muito significativas (cinzento escuro).

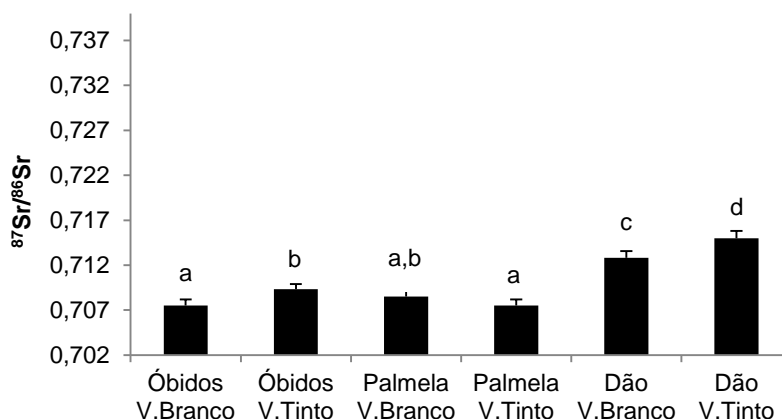


Figura 12 – Razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dos vinhos.

As razões $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ apresentadas correspondem à média de duas réplicas independentes e respectivo desvio-padrão. Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes ao nível de significância 0,05.

IV.3. Ensaio de nanofiltração

IV.3.1. Soluções-modelo

Como referido anteriormente, efectuou-se a permeação de soluções-modelo de modo a interpretar os resultados obtidos relativamente aos vinhos correctamente. Inicialmente efectuou-se a permeação de soluções hidroalcoólicas e posteriormente de soluções quaternárias.

IV.3.1.1. Soluções hidroalcoólicas

Nesta etapa avaliou-se a rejeição ao etanol através da permeação de soluções hidroalcoólicas com diferentes concentrações volúmicas em etanol, variando de 8 a 16%. A permeação destas soluções foi efectuada a duas pressões transmembranares, 6 e 15 bar.

Em cada ensaio determinou-se o fluxo de permeação, tendo-se observado que, na permeação de soluções hidroalcoólicas a 6 bar com diferentes concentrações de etanol, o seu valor não sofre alterações significativas. Por outro lado, na permeação de soluções hidroalcoólicas a 15 bar, observa-se uma diminuição do fluxo de permeado com o aumento da concentração em etanol na alimentação. Como seria de esperar, verificou-se um aumento dos fluxos com o aumento da pressão. Os resultados obtidos estão apresentados na **figura 13**.

É de referir que se efectuou a permeação de soluções a 6 bar com concentrações de etanol diferentes das apresentadas, contudo alguns pontos foram retirados devido a erros experimentais.

Através da **figura 14**, relativa à permeação de soluções hidroalcoólicas a 6 bar, verifica-se que os coeficientes de rejeição ao etanol diminuem com o aumento da percentagem de etanol na alimentação. Isto é, a permeabilidade da membrana ao etanol é tanto maior, quanto maior a concentração em etanol na solução de alimentação.

Na **figura 15**, referente à permeação das soluções hidroalcoólicas a 15 bar, observa-se uma tendência de diminuição do coeficiente de rejeição ao etanol com o aumento da concentração em

etanol na alimentação, corroborando os resultados obtidos na permeação de soluções hidroalcoólicas a 6 bar.

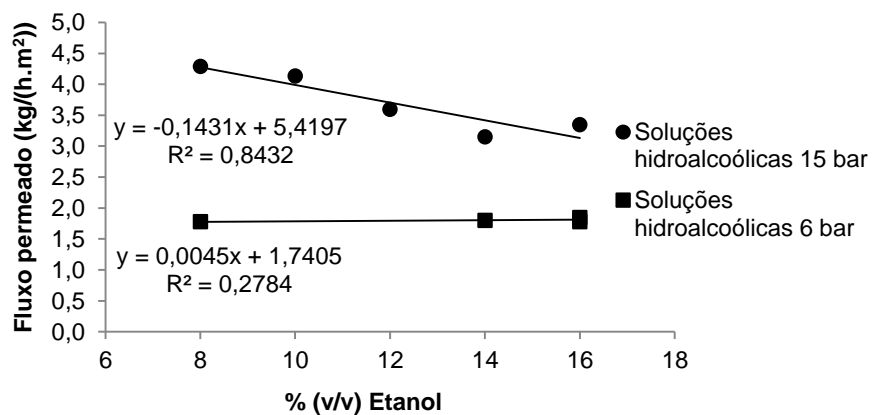


Figura 13 – Fluxos de permeado em função da concentração de etanol na alimentação, obtidos pela permeação de soluções hidroalcoólicas a 6 e 15 bar.

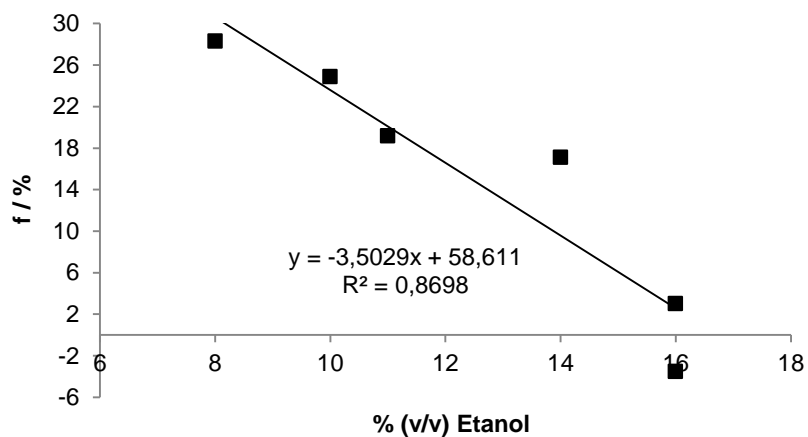


Figura 14 – Coeficientes de rejeição (f) em função da concentração de etanol na alimentação, obtidos pela permeação de soluções hidroalcoólicas a 6 bar.

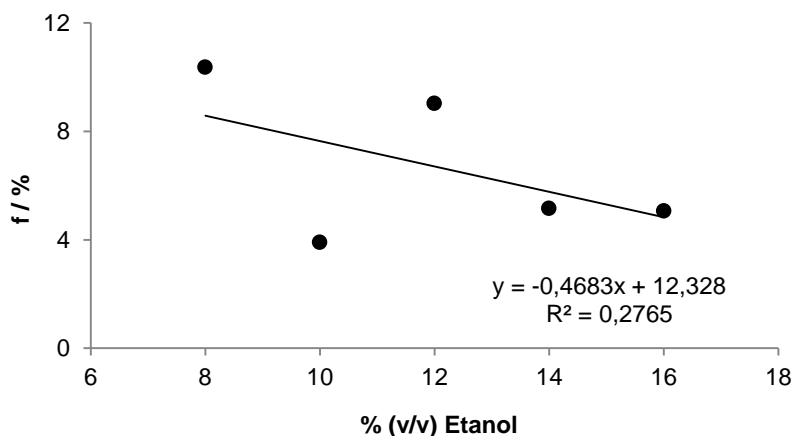


Figura 15 – Coeficientes de rejeição (f) em função da concentração de etanol na alimentação, obtidos pela permeação de soluções hidroalcoólicas a 15 bar.

IV.3.1.2. Soluções quaternárias

Nesta etapa permearam-se três soluções com diferentes concentrações em etanol, 9, 12 e 16%, com concentração em Sr de 0,5 mg/L e com concentração em ácido tartárico de 3 g/L. As três soluções apresentavam um valor de pH de 3,5 cujo acerto foi efectuado com uma solução de NaOH 10M.

Os fluxos de permeado relativos aos três ensaios de permeação de soluções-modelo quaternárias, efectuados a 15 bar, foram registados e comparados com os fluxos obtidos na permeação de soluções hidroalcoólicas também a 15 bar.

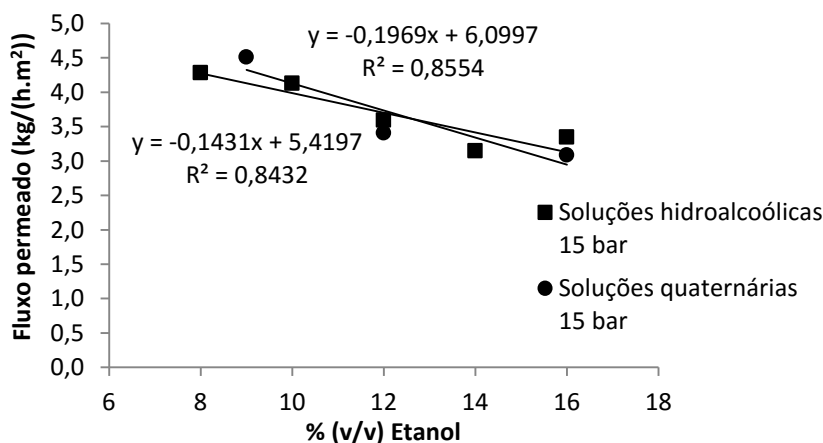


Figura 16 – Fluxos de permeado em função da concentração de etanol em soluções-modelo hidroalcoólicas e quaternárias, obtidos pela permeação das soluções a 15 bar (Soluções-modelo hidroalcoólicas: soluções aquosas com 8, 10, 12, 14 e 16%(v/v) em etanol; Soluções-modelo quaternárias: soluções aquosas com 9, 12 e 16%(v/v) em etanol, 0,5 mg/L de Sr, 3 g/L de ácido tartárico e pH de 3,5).

Através da **figura 16**, verifica-se que os fluxos resultantes da permeação a 15 bar de soluções-modelo hidroalcoólicas e de soluções-modelo quaternárias são muito semelhantes, pelo que se conclui que nem a presença de Sr nem a de ácido tartárico tem algum efeito sobre estes.

De modo a avaliar a permeabilidade da membrana a cada um dos constituintes determinaram-se os coeficientes de rejeição respectivos, que se encontram na **figura 17**.

A partir da **figura 17**, observa-se que as rejeições ao Sr e ao ácido tartárico são elevadas enquanto que a rejeição ao etanol é muito baixa. No caso do ácido tartárico, as rejeições aumentaram com o aumento da concentração de etanol na alimentação, o que não se verifica nem em relação ao Sr nem em relação ao etanol. As rejeições ao Sr e ao etanol são praticamente constantes com a concentração em etanol na alimentação, correspondendo ao valor médio dos três ensaios, 97,0% e 8,5%, respectivamente.

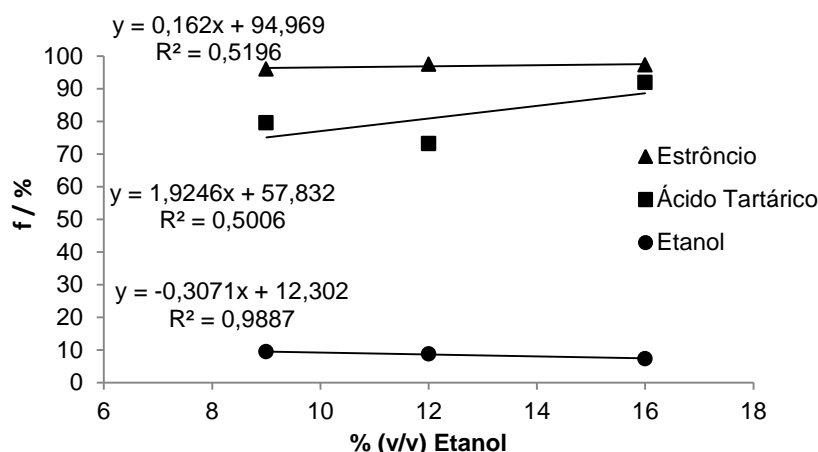


Figura 17– Coeficientes de rejeição (f) ao etanol, ácido tartárico e Sr em função da concentração de etanol na alimentação, obtidos pela permeação de soluções-modelo quaternárias a 15 bar (Soluções-modelo quaternárias: soluções aquosas com 9, 12 e 16%(v/v) em etanol; 0,5 mg/L de Sr; 3 g/L de ácido tartárico e pH de 3,5).

IV.3.2. Vinhos

De seguida, apresentam-se os resultados referentes às fracções de NF dos vinhos.

IV.3.2.1. Fluxos de Permeação

Durante os ensaios de NF de cada vinho foram medidos os fluxos de permeado, estando apresentados na **figura 18**.

A partir da **figura 18**, verifica-se que os fluxos apresentam valores semelhantes para o mesmo tipo de vinho. Observa-se ainda que os fluxos de permeado de vinhos brancos são superiores aos fluxos de permeado de vinhos tintos, como seria de esperar, visto que os vinhos tintos têm uma matriz mais complexa.

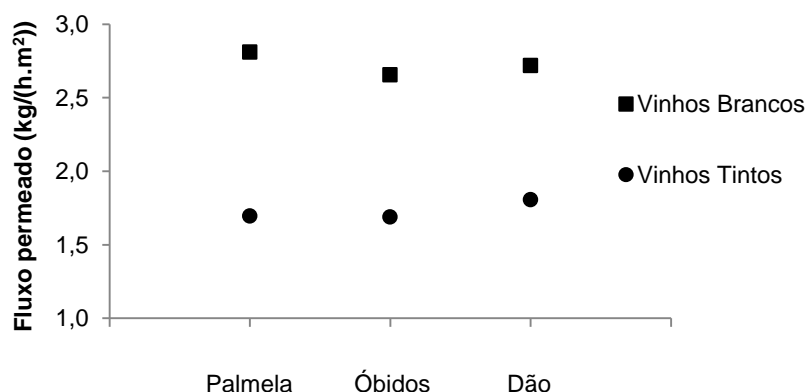


Figura 18 – Fluxos de permeado correspondentes à nanofiltração de cada vinho.

IV.3.2.2. Caracterização físico-química geral

A caracterização físico-química geral das fracções de NF dos vinhos encontra-se nas **tabelas 18 e 19**.

Antes de mais, refere-se que estes parâmetros foram determinados por FTIR (metodologia calibrada para vinhos), sendo os resultados obtidos para o permeado apenas indicativos, visto a sua composição físico-química ser distinta de a do vinho.

A massa volúmica da alimentação inicial é muito semelhante à da alimentação final, sendo ligeiramente inferior no permeado.

O teor alcoólico na alimentação não sofreu alterações significativas durante a NF, contudo verifica-se que o seu valor no permeado é inferior, indicando que a membrana não permeia água e etanol nas mesmas proporções. Os resultados obtidos estão de acordo com os apresentados por Massot *et al.* (2008). Sendo a desalcoolização do vinho uma das aplicações da NF, refere-se que o teor alcoólico da alimentação final pode ser reduzido através da reintrodução da água permeada. Como tal, é necessária a separação da água da restante corrente de permeado.

O extracto seco na alimentação altera-se ligeiramente durante a NF, estando de acordo com o relatado por Lança (2011). Os teores no permeado são muito inferiores aos da alimentação, pelo que grande parte dos compostos não-voláteis são retidos pela membrana.

Quanto à acidez total, verifica-se que o seu valor na alimentação sofre ligeiras alterações durante a NF, assim como o reportado por Gonçalves *et al.* (2010). No permeado, a acidez total é muito inferior à da alimentação, o que indica retenção do ácido tartárico.

A acidez volátil não sofre alterações significativas na alimentação durante a NF, estando de acordo com o apresentado por Gonçalves *et al.* (2010). O seu valor no permeado é inferior ao da alimentação, sugerindo que o ácido acético não permeia preferencialmente a membrana.

Em relação ao pH, o seu valor na alimentação não se altera significativamente durante a operação de NF, estando em concordância com resultados publicados (Massot *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.*, 2010; Lança, 2011). O pH do permeado é ligeiramente inferior ao da alimentação em todos os vinhos, excepto no vinho branco da DOP Palmela.

O sulfuroso total altera-se ligeiramente na alimentação durante a NF. Nos vinhos brancos, o sulfuroso total apresenta valores inferiores no permeado, enquanto que nos vinhos tintos a situação é inversa.

Quanto às substâncias redutoras, o seu valor na alimentação também se altera ligeiramente durante a NF. Visto que a sua concentração no permeado é muito inferior à da alimentação, verifica-se que existe rejeição por parte da membrana.

Os resultados anteriores apresentam em geral variações mínimas, estando de acordo com os apresentados por Garcia (2012) para razões de permeação até 10%.

No caso das cinzas, verifica-se que o seu valor se altera ligeiramente durante a NF. No permeado, apresenta valores inferiores aos da alimentação, indicando retenção por parte da membrana.

Tabela 18 – Caracterização físico-química geral das fracções de nanofiltração dos vinhos brancos (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; ND – Não detectado).

	Óbidos V.Branco			Palmela V.Branco			Dão V.Branco		
	A.I.	A.F.	P.	A.I.	A.F.	P.	A.I.	A.F.	P.
Massa volúmica a 20°C (g/mL)	0,9878	0,9884	0,9827	0,9889	0,9902	0,9836	0,9897	0,9887	0,9832
Teor alcoólico a 20°C (% v/v)	13,0	13,0	12,2	12,1	12,1	11,3	12,6	12,5	11,7
Extracto seco (g/L)	17,2	19,0	1,8	17,1	20,5	1,2	20,7	17,9	1,5
Acidez total (g/L) ácido tartárico	3,4	3,5	0,9	4,9	5,8	0,7	5,6	4,9	0,7
Acidez volátil (g/L) ácido acético	0,35	0,36	0,20	0,26	0,29	0,18	0,29	0,28	0,18
pH	3,26	3,25	3,12	3,06	3,06	3,09	3,22	3,22	3,13
Sulfuroso total (mg/L)	102	115	47	74	79	59	95	89	56
Substâncias redutoras (g/L)	3,1	3,4	0,3	2,8	3,4	0,8	3,2	2,6	0,6
Cinzas (g/L)	2,3	2,4	0,4	1,5	1,8	0,4	2,2	1,9	0,4
Ácido tartárico (g/L)	1,0	0,8	ND	1,2	1,5	ND	1,5	1,2	ND
Ácido málico (g/L)	ND	ND	ND	1,5	1,7	ND	1,9	1,6	ND
Ácido láctico (g/L)	1,0	1,1	0,5	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2

Tabela 19 – Caracterização físico-química geral das fracções de nanofiltração dos vinhos tintos (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; ND – Não detectado).

	Óbidos V.Tinto			Palmela V.Tinto			Dão V.Tinto		
	A.I.	A.F.	P.	A.I.	A.F.	P.	A.I.	A.F.	P.
Massa volúmica a 20°C (g/mL)	0,9931	0,9943	0,9841	0,9951	0,9941	0,9857	0,9930	0,9949	0,9837
Teor alcoólico a 20°C (% v/v)	11,9	11,9	11,3	10,6	10,6	9,9	12,4	12,4	11,6
Extracto seco (g/L)	27,5	30,7	2,6	28,6	25,8	2,2	28,6	33,5	2,5
Acidez total (g/L) ácido tartárico	4,7	5,0	1,3	6,1	5,7	1,6	4,5	5,1	1,2
Acidez volátil (g/L) ácido acético	0,56	0,56	0,44	0,76	0,76	0,64	0,52	0,56	0,41
pH	3,59	3,63	3,14	3,52	3,49	3,14	3,54	3,64	3,13
Sulfuroso total (mg/L)	53	57	67	6	19	67	66	62	72
Substâncias redutoras (g/L)	3,1	3,6	0,3	1,7	1,5	0,4	3,2	3,7	0,3
Cinzas (g/L)	3,3	3,6	0,4	3,0	2,8	0,5	2,8	3,3	0,4
Ácido tartárico (g/L)	0,9	0,8	ND	1,1	1,1	0,2	0,4	0,6	ND
Ácido láctico (g/L)	1,7	1,9	0,4	2,5	2,3	0,5	1,2	1,3	0,5

Considerando as concentrações de ácido málico e láctico, observa-se que o vinho branco da DOP Óbidos sofreu fermentação maloláctica. Em geral, os ácidos tartárico, málico e láctico não se alteram significativamente durante a NF, verificando-se elevada rejeição ao ácido tartárico e ao ácido málico, no caso dos vinhos brancos. Para o ácido láctico, observa-se também elevada rejeição nos três vinhos tintos e no vinho branco da DOP Óbidos. Estes resultados estão de acordo com os apresentados por Lança (2011).

Acrescenta-se que se verifica um efeito de concentração no extracto seco, acidez total, substâncias redutoras e cinzas em todos os vinhos, excepto no vinho branco da DOP Dão e no vinho tinto da DOP Palmela. Tendo em conta que os compostos associados a estes parâmetros são maioritariamente rejeitados pela membrana, seria de esperar o aumento da sua concentração em todos os vinhos, pelo que os ensaios com estes dois vinhos deveriam ter sido repetidos. Pensa-se que as diferenças observadas nestes dois vinhos se deveram a erro analítico, contudo não foi possível repetir a determinação analítica pela inexistência de volume de amostra suficiente.

Como referido, para se efectuar a desalcoholização dos vinhos por NF seria necessário repor a água retirada no permeado, o que iria alterar os resultados obtidos. Através do teor alcoólico do permeado, determinou-se a quantidade de água permeada e recalcularam-se as concentrações no vinho nanofiltrado, no caso de esta água ser novamente adicionada (**tabela 20**). Refere-se que apenas se considerou a reposição de água pura contudo, na prática, a solução adicionada ao vinho nanofiltrado poderá conter outros compostos.

Caso se reintroduzisse a água permeada nos vinhos nanofiltrados, o teor alcoólico diminuiria em média 1,5%.

Em geral, os parâmetros analisados apresentariam valores muito semelhantes na alimentação inicial e na alimentação final após reintrodução de água nos vinhos estudados (extracto seco, acidez total, acidez volátil, substâncias redutoras, cinzas, ácido tartárico e ácido láctico), excluindo o vinho branco da DOP Dão e o vinho tinto da DOP Palmela que apresentam resultados distintos.

No extracto seco, cinzas e substâncias redutoras seria de esperar um efeito de concentração, contudo este efeito não foi observado provavelmente pela metodologia aplicada na determinação das concentrações na alimentação final (FTIR).

Tabela 20 – Caracterização físico-química geral da alimentação final dos vinhos, caso se adicionasse a água retirada no permeado (ND – Não detectado).

	Óbidos V.Branco	Palmela V.Branco	Dão V.Branco	Óbidos V.Tinto	Palmela V.Tinto	Dão V.Tinto
Teor alcoólico a 20°C (% v/v)	11,4	10,6	11,0	10,5	9,2	10,9
Extracto seco (g/dm ³)	16,7	18,0	15,7	26,9	22,6	29,4
Acidez total (g/dm ³) ác. tartárico	3,1	5,1	4,3	4,4	5,0	4,5
Acidez volátil (g/dm ³) ác. acético	0,32	0,25	0,25	0,49	0,67	0,49
Sulfuroso total (mg/dm ³)	101	69	78	50	17	54
Substâncias redutoras (g/dm ³)	3,0	2,9	2,3	3,2	1,3	3,3
Cinzas (g/dm ³)	2,1	1,6	1,7	3,2	2,5	2,9
Ácido tartárico (g/dm ³)	0,7	1,3	1,0	0,7	1,0	0,5
Ácido málico (g/dm ³)	ND	1,5	1,4	---	---	---
Ácido láctico (g/dm ³)	1,0	0,1	0,1	1,7	2,0	1,1

IV.3.2.2.1. Polissacáridos Totais

A concentração em polissacáridos totais foi determinada no permeado, na alimentação inicial e na alimentação final de cada vinho, encontrando-se os resultados na **tabela 21**.

Observa-se um aumento de concentração dos polissacáridos entre a alimentação no início e no fim da operação, devido à eliminação de outros constituintes do vinho como água e etanol.

Tabela 21 – Concentração em polissacáridos totais no permeado, na alimentação inicial e na alimentação final de cada vinho (LD = 4,5 mg/L e LQ = 19 mg/L).

Amostra	Concentração em polissacáridos totais (mg/L)		
	Alimentação inicial	Alimentação final	Permeado
Óbidos V.Branco	343	593	< 19
Palmela V.Branco	372	528	< 4,5
Dão V.Branco	416	583	< 19
Óbidos V.Tinto	716	977	< 19
Palmela V.Tinto	820	1161	< 4,5
Dão V.Tinto	1139	1363	< 4,5

A partir destes resultados estimaram-se os coeficientes de rejeição aos polissacáridos totais de cada vinho, estando estes apresentados na **tabela 22**.

Tabela 22 – Coeficientes de rejeição aos polissacáridos totais.

Amostra	Coeficiente de Rejeição (%)
Óbidos V.Branco	> 94,5
Palmela V.Branco	> 98,8
Dão V.Branco	> 95,4
Óbidos V.Tinto	> 97,3
Palmela V.Tinto	> 99,5
Dão V.Tinto	> 99,6

De acordo com a **tabela 22**, verifica-se que os coeficientes de rejeição aos polissacáridos totais são muito elevados para todos os vinhos tratados por NF. Os resultados indicam que estes compostos são retidos pela membrana, permanecendo no vinho. É de notar que o possível complexo de Sr formado com as RGII permanecerá na alimentação, sugerindo que não existem perdas significativas de Sr nesta forma.

Se se considerasse novamente a reintrodução da água do permeado no vinho nanofiltrado, obter-se-iam as concentrações em polissacáridos apresentadas na **tabela 23**.

Tabela 23 – Concentração em polissacáridos totais na alimentação final, caso se adicionasse a água retirada no permeado.

Amostra	Concentração em polissacáridos totais (mg/L)
Óbidos V.Branco	520
Palmela V.Branco	464
Dão V.Branco	512
Óbidos V.Tinto	857
Palmela V.Tinto	1016
Dão V.Tinto	1196

Apesar da reposição da água permeada no vinho nanofiltrado, verificar-se-ia um aumento da concentração em polissacáridos da alimentação final para a alimentação inicial, contudo menos evidente em relação à primeira hipótese apresentada.

IV.3.2.2.2. Características cromáticas, antocianinas totais e índice de fenóis totais

Nesta secção determinaram-se a intensidade e tonalidade da cor, a concentração em antocianinas totais e o índice de fenóis totais nas fracções de NF relativas a vinhos tintos. Quanto aos vinhos brancos, determinou-se apenas o índice de fenóis totais.

Os resultados obtidos relativamente à intensidade e tonalidade da cor nas fracções alimentação inicial e alimentação final encontram-se nas **tabelas 24 e 25**, respectivamente.

Tabela 24 – Intensidade da cor das fracções de nanofiltração dos vinhos.

Amostra	Intensidade da cor (u.a.)	
	Alimentação inicial	Alimentação final
Óbidos V.Tinto	13,810	14,945
Palmela V.Tinto	13,375	14,775
Dão V.Tinto	10,800	13,040

Tabela 25 – Tonalidade da cor das fracções de nanofiltração dos vinhos.

Amostra	Tonalidade da cor (u.a.)	
	Alimentação inicial	Alimentação final
Óbidos V.Tinto	0,697	0,760
Palmela V.Tinto	0,768	0,738
Dão V.Tinto	0,759	0,789

Através das **tabelas 24 e 25**, verifica-se que tanto a intensidade como a tonalidade da cor do vinho nanofiltrado são ligeiramente superiores às do vinho inicial. Considerando que se trabalhou com pequenos volumes de vinho, a sua oxidação foi favorecida, dificultando a avaliação dos resultados. Ainda assim, estão em concordância com os apresentados por Massot *et al.* (2008) e Garcia (2012). Lança (2011) verificou também um aumento da intensidade da cor, contudo observou uma ligeira diminuição da tonalidade da cor, ao contrário do obtido. Já Gonçalves *et al.* (2010) verificaram ligeiras reduções na intensidade e tonalidade da cor.

A concentração em antocianinas totais nas fracções de NF e os respectivos coeficientes de rejeição para cada vinho tinto encontram-se na **tabela 26**.

Analisando os resultados, verifica-se que os coeficientes de rejeição às antocianinas são elevados, observando-se um aumento da concentração destes compostos no vinho nanofiltrado devido à eliminação de água e etanol. Estes resultados estão, em geral, de acordo com os relatados por Garcia (2012).

Tabela 26 – Concentração em antocianinas totais nas fracções de nanofiltração dos vinhos e respectivos coeficientes de rejeição.

Amostra	Concentração em antocianinas totais (mg/L)			Coeficiente de Rejeição (%)
	Alimentação inicial	Alimentação final	Permeado	
Óbidos V.Tinto	229	296	13	94,3
Palmela V.Tinto	140	170	2	98,6
Dão V.Tinto	187	217	17	90,8

Considerando a introdução da água permeada no vinho nanofiltrado, a concentração em antocianinas na alimentação final seria a apresentada na **tabela 27**.

Tabela 27 – Concentração em antocianinas totais na alimentação final, caso se adicionasse a água retirada no permeado.

Amostra	Concentração em antocianinas totais (mg/L)
Óbidos V.Tinto	260
Palmela V.Tinto	149
Dão V.Tinto	190

A concentração em antocianinas na alimentação final após reposição da água do permeado seria superior à da alimentação inicial mas inferior à da alimentação final apresentada na **tabela 26**, verificando-se um efeito de concentração mas não tão acentuado quanto o da primeira opção.

Os índices de fenóis totais nas fracções de NF de cada vinho estão apresentados na **tabela 28**.

Tabela 28 – Índice de fenóis totais nas fracções de nanofiltração dos vinhos.

Amostra	Índice de fenóis totais (u.a.)		
	Alimentação inicial	Alimentação final	Permeado
Óbidos V.Branco	6	8	1
Palmela V.Branco	8	16	1
Dão V.Branco	6	7	1
Óbidos V.Tinto	53	62	1
Palmela V.Tinto	46	54	2
Dão V.Tinto	55	66	1

De acordo com os resultados, os compostos fenólicos são maioritariamente rejeitados pela membrana, sendo o seu teor no vinho nanofiltrado superior ao teor no vinho inicial, devido novamente à eliminação de água e etanol. Estes resultados estão de acordo com dados publicados por Massot *et al.* (2008) e Garcia (2012). Pelo contrário, Gonçalves *et al.* (2010) observaram uma diminuição do índice de fenóis totais do vinho original para o vinho nanofiltrado.

IV.3.2.2.3. Composição Mineral

A composição mineral das fracções de NF dos vinhos encontra-se nas **tabelas 29 a 34**. Os limites de detecção e quantificação do método aplicado estão referidos em Catarino *et al.* (2006b) e Catarino *et al.* (2011), respectivamente.

Em geral as rejeições foram elevadas, sendo mais notáveis nos elementos Na, Mg, Al, Rb e Sr por estarem presentes em concentrações superiores. No grupo dos lantanídeos, a permeação foi também reduzida, sendo a maioria dos teores no permeado inferior ao limite de quantificação. Como referido anteriormente, para estes elementos os limites de quantificação apresentados correspondem ao método quantitativo, contudo usou-se o método semi-quantitativo, não sendo o mais adequado para dosear estes elementos.

O aparente aumento de alguns elementos como As, Cd, Sn, Sb e Pb deve-se a erro analítico, associado às baixas concentrações em que se encontram.

Tabela 29 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho branco da DOP Óbidos (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).

Elemento	A.I. (µg/L)	A.F. (µg/L)	P. (µg/L)
Li	0,522 (0,009)	0,594 (0,009)	< 0,003 (LD)
Be	0,07 (0,03)	0,055 (0,006)	< 0,003 (LD)
Na	15612 (310)	17862 (25)	184 (10)
Mg	49610 (313)	58438 (209)	81 (6)
Al	144 (4)	164 (1)	19 (1)
Sc	0,1 (0,2)	< LD	< LD
V	0,238 (0,003)	0,88 (0,04)	0,06 (0,02)
Ga	0,40 (0,06)	0,50 (0,01)	0,019 (0,002)
As	0,4468 (0,0007)	0,57 (0,02)	1,07 (0,05)
Rb	498 (3)	574 (5)	8,8 (0,3)
Sr	24,3 (0,3)	33,7 (0,3)	0,49 (0,02)
Y	0,067 (0,006)	0,101 (0,008)	0,020 (0,003)
Zr	0,0004 (0,0001)	0,008 (0,002)	0,0023 (0,00004)
Nb	0,000060 (0,000006)	0,00050 (0,00005)	0,000013 (0,000005)
Mo	0,00206 (0,00007)	0,023 (0,001)	0,0020 (0,0002)
Cd	0,44 (0,01)	0,502 (0,005)	0,76 (0,03)
Sn	0,9 (0,1)	3,6 (0,2)	15,4 (0,4)
Sb	0,177 (0,007)	0,21 (0,03)	2,215 (0,006)
Cs	1,43 (0,01)	1,64 (0,03)	0,034 (0,001)
Ba	16,3 (0,1)	23 (4)	10,68 (0,04)
La	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)
Ce	0,04 (0,02)	0,061 (0,004)	0,057 (0,005)
Pr	0,0052 (0,0008)	0,007 (0,001)	0,007 (0,001)
Nd	0,020 (0,006)	0,034 (0,008)	< 0,0046 (LQ)
Sm	< 0,0040 (LQ)	< 0,0040 (LQ)	< 0,0040 (LQ)
Eu	0,007 (0,005)	0,013 (0,004)	0,003 (0,002)
Gd	0,005 (0,005)	< 0,0046 (LQ)	< 0,0046 (LQ)
Tb	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)
Dy	0,006 (0,003)	0,006 (0,004)	< 0,0041 (LQ)
Ho	0,003 (0,001)	0,005 (0,001)	< 0,0020 (LQ)
Er	0,009 (0,002)	0,014586 (0,000006)	< 0,0039 (LQ)
Tm	0,002 (0,002)	0,004 (0,002)	< 0,0019 (LQ)
Yb	0,025 (0,007)	0,028294 (0,000008)	< 0,0031 (LQ)
Lu	0,007 (0,003)	0,007 (0,002)	< 0,0018 (LQ)
Tl	0,089 (0,007)	0,102 (0,007)	0,013 (0,001)
Pb	11,7 (0,2)	13 (1)	734 (9)

Tabela 30 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho branco da DOP Palmela (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).

Elemento	A.I. (µg/L)	A.F. (µg/L)	P. (µg/L)
Li	1,71 (0,02)	2,1 (0,1)	0,022 (0,005)
Be	0,20 (0,01)	0,164 (0,007)	0,006 (0,007)
Na	23826 (201)	27798 (106)	297 (17)
Mg	39714 (178)	46501 (178)	137 (11)
Al	435,1 (0,9)	570 (99)	32 (2)
Sc	0,6 (0,8)	< LD	< LD
V	0,375 (0,003)	0,88 (0,04)	0,0857 (0,0003)
Ga	0,33 (0,02)	0,47 (0,03)	0,03282 (0,00002)
As	0,66 (0,02)	0,835 (0,009)	1,15 (0,05)
Rb	245,3 (0,5)	304 (18)	8,0 (0,2)
Sr	43,5 (0,1)	55,6 (0,7)	0,55 (0,03)
Y	0,38 (0,03)	0,456 (0,003)	0,029 (0,007)
Zr	0,014224 (0,000001)	0,0160 (0,0004)	0,00057 (0,00007)
Nb	0,000042 (0,000003)	0,00040 (0,00003)	0,000020 (0,000003)
Mo	0,00091 (0,00003)	0,01433 (0,00007)	0,0016 (0,0001)
Cd	0,097 (0,001)	0,08 (0,01)	1,34 (0,07)
Sn	1,89 (0,04)	6,8 (0,3)	15,3 (0,2)
Sb	0,17 (0,02)	0,20 (0,01)	2,23 (0,01)
Cs	1,14 (0,04)	1,38 (0,04)	0,064 (0,002)
Ba	15,0 (0,1)	21,3 (0,3)	6,8 (0,3)
La	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)
Ce	0,14 (0,05)	0,22 (0,01)	0,081 (0,007)
Pr	0,0223 (0,0008)	0,0275 (0,0008)	0,0065 (0,0009)
Nd	0,109 (0,006)	0,11 (0,02)	0,018 (0,004)
Sm	0,02 (0,01)	0,03 (0,02)	0,01 (0,01)
Eu	0,015 (0,004)	0,016 (0,002)	0,003 (0,002)
Gd	0,030 (0,002)	0,036 (0,002)	0,005 (0,004)
Tb	0,007 (0,002)	0,00754 (0,00008)	< 0,0020 (LQ)
Dy	0,0457 (0,0005)	0,053 (0,005)	< 0,0041 (LQ)
Ho	0,01578 (0,00004)	0,020 (0,003)	< 0,0020 (LQ)
Er	0,0703 (0,0003)	0,077 (0,003)	< 0,0039 (LQ)
Tm	0,016 (0,001)	0,01654 (0,00005)	< 0,0019 (LQ)
Yb	0,11 (0,01)	0,14801 (0,00008)	< 0,0031 (LQ)
Lu	0,029 (0,001)	0,0361 (0,0009)	< 0,0018 (LQ)
Tl	0,11 (0,01)	0,1292 (0,0009)	0,023 (0,001)
Pb	19,1 (0,2)	24,7 (0,4)	729 (16)

Tabela 31 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho branco da DOP Dão (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).

Elemento	A.I. (µg/L)	A.F. (µg/L)	P. (µg/L)
Li	1,88 (0,05)	2,25 (0,06)	0,005 (0,001)
Be	0,13 (0,05)	0,15 (0,02)	< 0,003 (LD)
Na	4067 (154)	4829 (146)	71 (3)
Mg	67454 (2492)	79862 (3350)	105 (1)
Al	45,6 (0,3)	55 (2)	26,6 (0,3)
Sc	< LD	1,4 (0,4)	0,02 (0,02)
V	0,083 (0,003)	0,511 (0,008)	0,077 (0,006)
Ga	0,55 (0,05)	0,67 (0,01)	0,026 (0,001)
As	0,25 (0,02)	0,34 (0,01)	0,919 (0,003)
Rb	891 (32)	1042 (30)	16,89 (0,02)
Sr	49 (1)	63,2 (0,6)	0,29 (0,01)
Y	0,0670 (0,0008)	0,080 (0,006)	0,024 (0,002)
Zr	0,00015 (0,00001)	0,000294 (0,000001)	0,00032 (0,00003)
Nb	0,000035 (0,000005)	0,00041 (0,00001)	0,000012 (0,000001)
Mo	0,00150 (0,00006)	0,0165 (0,0004)	0,00095 (0,00006)
Cd	0,0358 (0,0009)	0,07 (0,01)	0,67 (0,04)
Sn	0,33 (0,07)	3,17 (0,05)	20,2 (0,3)
Sb	0,060 (0,002)	0,069 (0,008)	2,046 (0,002)
Cs	5,74 (0,08)	6,76 (0,07)	0,114 (0,003)
Ba	29 (5)	31,1 (0,6)	7,76 (0,05)
La	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)
Ce	0,075 (0,002)	0,088 (0,005)	0,060 (0,003)
Pr	0,007 (0,003)	0,010 (0,004)	0,0062 (0,0008)
Nd	0,026 (0,002)	0,026 (0,001)	0,022 (0,003)
Sm	0,01 (0,01)	< 0,0040 (LQ)	< 0,0040 (LQ)
Eu	0,012 (0,003)	0,013 (0,002)	0,006 (0,002)
Gd	< 0,0046 (LQ)	0,006 (0,002)	< 0,0046 (LQ)
Tb	< 0,0020 (LQ)	0,008 (0,005)	< 0,0020 (LQ)
Dy	0,009 (0,001)	0,007 (0,003)	< 0,0041 (LQ)
Ho	0,00299 (0,00003)	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)
Er	0,008 (0,002)	0,007 (0,005)	< 0,0039 (LQ)
Tm	< 0,0019 (LQ)	0,003 (0,001)	< 0,0019 (LQ)
Yb	0,011 (0,004)	0,011 (0,003)	< 0,0031 (LQ)
Lu	0,004 (0,001)	0,00352 (0,00006)	< 0,0018 (LQ)
Tl	0,189 (0,002)	0,215 (0,003)	0,019 (0,002)
Pb	2,1 (0,2)	3,5 (0,3)	594 (9)

Tabela 32 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho tinto da DOP Óbidos (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).

Elemento	A.I. (µg/L)	A.F. (µg/L)	P. (µg/L)
Li	2,63 (0,08)	3,04 (0,01)	0,020 (0,007)
Be	0,139 (0,006)	0,12 (0,02)	0,005 (0,007)
Na	15627 (45)	18453 (191)	378 (15)
Mg	106269 (777)	124386 (2523)	280 (18)
Al	103 (8)	113,8 (0,1)	40 (7)
Sc	1,0 (0,2)	0,8 (0,2)	0,1 (0,2)
V	0,07 (0,02)	0,67227 (0,00009)	0,135 (0,009)
Zn	552 (10)	659 (4)	29000 (873)
Ga	1,49 (0,04)	1,72 (0,01)	0,037 (0,003)
As	0,224 (0,007)	0,386 (0,003)	1,72 (0,06)
Rb	599 (2)	683 (17)	13,0 (0,3)
Sr	115 (2)	137 (3)	1,34 (0,08)
Y	0,077 (0,001)	0,107 (0,003)	0,041 (0,004)
Zr	0,000140 (0,000006)	0,00030 (0,00002)	0,00017 (0,00004)
Nb	0,000028 (0,000001)	0,000421 (0,000008)	0,000025 (0,000004)
Mo	0,00106 (0,00001)	0,01837 (0,00006)	0,0040 (0,0003)
Cd	0,06 (0,01)	0,08 (0,04)	1,41 (0,03)
Sn	0,2647 (0,0001)	3,6 (0,2)	12,69 (0,02)
Sb	0,07 (0,01)	0,104 (0,001)	3,02 (0,07)
Cs	0,577 (0,005)	0,67 (0,01)	0,016 (0,002)
Ba	109,6 (0,4)	123 (3)	21,4 (0,8)
La	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	0,11 (0,07)
Ce	0,009 (0,007)	0,04 (0,02)	0,08 (0,02)
Pr	0,006 (0,003)	0,004 (0,001)	0,008 (0,002)
Nd	0,015 (0,001)	0,02 (0,01)	0,014 (0,009)
Sm	0,005 (0,008)	< 0,0040 (LQ)	0,01 (0,01)
Eu	0,04 (0,01)	0,06 (0,02)	0,011 (0,001)
Gd	< 0,0046 (LQ)	0,006 (0,002)	< 0,0046 (LQ)
Tb	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)
Dy	0,006 (0,005)	0,009 (0,002)	< 0,0041 (LQ)
Ho	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)
Er	0,007 (0,001)	0,0072 (0,0005)	< 0,0039 (LQ)
Tm	0,0021 (0,0004)	0,0030 (0,0009)	< 0,0019 (LQ)
Yb	0,0159 (0,0005)	0,015 (0,002)	< 0,0031 (LQ)
Lu	0,0025 (0,0006)	0,004 (0,002)	< 0,0018 (LQ)
Tl	0,073 (0,008)	0,0875 (0,0006)	0,02123 (0,00003)
Pb	3,76 (0,07)	7,2 (0,2)	973 (34)

Tabela 33 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho tinto da DOP Palmela (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).

Elemento	A.I. (µg/L)	A.F. (µg/L)	P. (µg/L)
Li	0,76 (0,02)	0,878 (0,007)	< 0,003 (LD)
Be	0,027 (0,001)	0,05 (0,02)	0,020 (0,008)
Na	26680 (484)	30121 (328)	1730 (70)
Mg	89276 (3387)	101454 (1482)	300 (17)
Al	192 (7)	217 (2)	41 (2)
Sc	1,33 (0,07)	0,9 (0,4)	< LD
V	0,164 (0,004)	1,405 (0,005)	0,23 (0,03)
Zn	1153 (60)	1352 (1)	62237
Ga	0,55 (0,02)	0,74 (0,02)	0,037 (0,003)
As	0,35 (0,03)	0,63 (0,02)	1,49 (0,04)
Rb	473 (17)	506 (4)	11,6 (0,3)
Sr	58 (2)	89,9 (0,6)	6,61 (0,09)
Y	0,063 (0,005)	0,077 (0,002)	0,10 (0,01)
Zr	0,00020 (0,00004)	0,00062 (0,00007)	0,000108 (0,000003)
Nb	0,000057 (0,000008)	0,00099 (0,00003)	0,000023 (0,000007)
Mo	0,00177 (0,00004)	0,0343 (0,0002)	0,0052 (0,0003)
Cd	0,055 (0,008)	0,01 (0,02)	2,7 (0,1)
Sn	1,55 (0,07)	17,5 (0,5)	6,8 (0,2)
Sb	0,07 (0,01)	0,108 (0,005)	3,0 (0,2)
Cs	1,33 (0,06)	1,50 (0,02)	0,036 (0,005)
Ba	21 (1)	27,51 (0,04)	50,0 (0,3)
La	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)
Ce	0,069 (0,002)	0,17 (0,01)	0,13 (0,02)
Pr	0,0081 (0,0004)	0,016 (0,006)	0,013 (0,003)
Nd	0,02 (0,01)	0,0574 (0,0006)	0,050 (0,002)
Sm	< 0,0040 (LQ)	0,005 (0,007)	0,007 (0,002)
Eu	0,0118 (0,0001)	0,013 (0,003)	0,023 (0,009)
Gd	0,006 (0,001)	0,0083 (0,0006)	0,009 (0,002)
Tb	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)	< 0,0020 (LQ)
Dy	0,0085 (0,0002)	0,0077 (0,0009)	0,0100 (0,0002)
Ho	< 0,0020 (LQ)	0,0029 (0,0001)	0,003 (0,001)
Er	< 0,0039 (LQ)	0,005 (0,003)	0,004 (0,005)
Tm	< 0,0019 (LQ)	0,0028 (0,0003)	< 0,0019 (LQ)
Yb	< 0,0031 (LQ)	0,005 (0,005)	< 0,0031 (LQ)
Lu	< 0,0018 (LQ)	0,0032 (0,0006)	< 0,0018 (LQ)
Tl	0,13 (0,01)	0,133 (0,002)	0,031 (0,009)
Pb	8,5 (0,4)	21,7 (0,5)	1149 (47)

Tabela 34 – Composição mineral das fracções de nanofiltração do vinho tinto da DOP Dão (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; LD – Limite de detecção; LQ – Limite de quantificação).

Elemento	A.I. (µg/L)	A.F. (µg/L)	P. (µg/L)
Li	8,18 (0,08)	10,2 (0,3)	0,08 (0,01)
Be	0,49 (0,05)	0,55 (0,01)	0,01 (0,01)
Na	3932 (37)	4786 (2)	112 (12)
Mg	91009 (852)	110721 (2360)	180 (39)
Al	141 (1)	189 (21)	31 (10)
Sc	1,0 (0,2)	2,2 (1,1)	< LD
V	0,08 (0,03)	0,54 (0,03)	0,091 (0,004)
Zn	568 (1)	704 (29)	20869 (2159)
Ga	1,03 (0,03)	1,28 (0,02)	0,027 (0,007)
As	0,212 (0,002)	0,3441 (0,0009)	1,0 (0,1)
Rb	1505 (2)	1812 (35)	28 (2)
Sr	176 (5)	217 (6)	0,95 (0,09)
Y	0,39 (0,03)	0,46 (0,03)	0,026 (0,003)
Zr	0,00021 (0,00006)	0,00039 (0,00003)	0,00010 (0,00003)
Nb	0,000030 (0,000008)	0,000394 (0,000004)	0,000015 (0,000001)
Mo	0,00145 (0,00006)	0,01534 (0,00003)	0,0025 (0,0004)
Cd	0,063 (0,001)	0,06 (0,01)	1,1 (0,1)
Sn	0,53 (0,02)	4,1 (0,3)	6,1 (0,6)
Sb	0,064 (0,007)	0,088 (0,001)	2,0 (0,2)
Cs	19,2 (0,2)	23,4 (0,2)	0,33 (0,04)
Ba	80,9 (0,7)	111 (4)	12 (1)
La	0,09 (0,07)	< 0,0800 (LQ)	< 0,0800 (LQ)
Ce	0,2 (0,1)	0,14 (0,04)	0,06 (0,02)
Pr	0,017 (0,004)	0,018 (0,004)	0,006 (0,002)
Nd	0,06 (0,01)	0,060 (0,008)	0,011 (0,005)
Sm	< 0,0040 (LQ)	0,017 (0,007)	< 0,0040 (LQ)
Eu	0,028 (0,006)	0,048 (0,001)	0,004 (0,002)
Gd	0,021 (0,008)	0,024 (0,005)	< 0,0046 (LQ)
Tb	0,004 (0,003)	0,005 (0,002)	< 0,0020 (LQ)
Dy	0,03 (0,01)	0,038 (0,001)	< 0,0041 (LQ)
Ho	0,010 (0,003)	0,0132 (0,0007)	< 0,0020 (LQ)
Er	0,042 (0,009)	0,051 (0,003)	< 0,0039 (LQ)
Tm	0,011 (0,002)	0,012 (0,004)	< 0,0019 (LQ)
Yb	0,0658 (0,0005)	0,08 (0,03)	< 0,0031 (LQ)
Lu	0,015 (0,002)	0,0176 (0,0007)	< 0,0018 (LQ)
Tl	0,42 (0,01)	0,48 (0,02)	0,02 (0,01)
Pb	5,4 (0,2)	9,3 (0,1)	677 (65)

35. Os coeficientes de rejeição ao Rb e ao Sr foram determinados, estando presentes na **tabela**

Tabela 35 – Coeficientes de rejeição ao Rb e ao Sr.

Amostra	Coeficiente de Rejeição (%)	
	Rb	Sr
Óbidos V.Branco	98,2	98,0
Palmela V.Branco	96,7	98,7
Dão V.Branco	98,1	99,4
Óbidos V.Tinto	97,8	98,8
Palmela V.Tinto	97,5	88,7
Dão V.Tinto	98,1	99,5

Verifica-se novamente que o Rb e o Sr apresentam elevadas rejeições, observando-se teores na alimentação final ligeiramente superiores aos da alimentação inicial. Como referido anteriormente, este efeito de concentração deve-se à eliminação de água e etanol. A concentração em Sr no permeado é muito baixa para todos os vinhos, sendo o resultado mais elevado de 6,61(0,09) µg/L correspondente ao vinho tinto da DOP Palmela, daí o seu coeficiente de rejeição ao Sr ser inferior ao dos restantes vinhos.

IV.3.2.2.4. Composição Isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

Após separação cromatográfica das fracções de NF, avaliou-se a razão entre Rb e Sr nas fracções de eluição com Sr. A razão [Rb]/[Sr] bem como a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ determinadas nestas fracções de eluição com Sr estão apresentadas na **tabela 36**.

Verifica-se que a separação foi bem sucedida em todas as fracções de NF, encontrando-se as razões [Rb]/[Sr] mais elevadas na alimentação inicial do vinho branco da DOP Óbidos (1,02%), na alimentação final do vinho branco da DOP Palmela (1,34%) e na alimentação inicial do vinho tinto da DOP Palmela (2,71%).

Durante a determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das amostras, avaliou-se a estabilidade do equipamento, não tendo sido observada instabilidade.

A precisão das medições da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ variou entre 0,02 e 0,27 % (RSD), encontrando-se no limite da precisão da técnica de ICP-MS. Apesar da precisão da técnica de ICP-MS com analisador de massas do tipo quadrupolo ser baixa, relativamente à precisão da técnica TIMS ($\leq 0,002\%$ (RSD)), o método de determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ por ICP-MS é suficientemente robusto e mais rápido em comparação com a TIMS (Horn *et al.*, 1993). Para valores muito próximos, como é o caso das razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em vinhos, a precisão pode ser um factor limitante, contudo foi demonstrado anteriormente que o método utilizado permite distinguir razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em vinhos (Almeida e Vasconcelos, 2001; Almeida e Vasconcelos, 2004).

No **anexo 3**, encontram-se os resultados do teste LSD para as razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das fracções de NF e os respectivos *p-values* para diferenças entre dois valores significativas (cinzento claro) e muito significativas (cinzento escuro).

Tabela 36 – Razão [Rb]/[Sr] e razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ nas fracções de nanofiltração após separação cromatográfica de Rb e Sr (A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado; * - valor não obtido).

Amostra	[Rb]/[Sr] (%)	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$
Óbidos V.Branco A.I.	0,19	0,7080±0,0008 a,b,c,d
Óbidos V.Branco A.I. (2)	0,13	
Óbidos V.Branco A.F.	1,02	0,709±0,001 b,c,d
Óbidos V.Branco A.F. (2)	*	
Óbidos V.Branco P.	0,44	0,707±0,001 a,b
Palmela V.Branco A.I.	0,47	0,7075±0,0007 a,b,c
Palmela V.Branco A.F.	1,34	0,7075±0,0007 a,b,c
Palmela V.Branco P.	0,31	0,7065±0,0007 a
Dão V.Branco A.I.	0,14	0,713±0,000 e
Dão V.Branco A.F.	0,17	0,714±0,000 e,f
Dão V.Branco P.	0,45	0,708±0,000 a,b,c,d
Óbidos V.Tinto A.I.	0,09	0,709±0,000 c,d
Óbidos V.Tinto A.F.	0,65	0,7095±0,0007 d
Óbidos V.Tinto P.	0,55	0,7085±0,0007 b,c,d
Palmela V.Tinto A.I.	2,71	0,709±0,000 c,d
Palmela V.Tinto A.F.	0,10	0,7075±0,0007 a,b,c
Palmela V.Tinto P.	0,13	0,708±0,001 a,b,c,d
Dão V.Tinto A.I.	0,06	0,715±0,001 f
Dão V.Tinto A.I. (2)	0,07	
Dão V.Tinto A.F.	0,05	0,714±0,001 e,f
Dão V.Tinto P.	0,19	0,709±0,001 c,d

(2) Duplicado efectuado a partir da digestão das amostras.

As razões $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ apresentadas correspondem à média de duas réplicas independentes e respectivo desvio-padrão. Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes ao nível de significância 0,05.

As razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das fracções de NF estão também apresentadas na **figura 19**. Recorda-se que a escala apresentada corresponde ao intervalo de variação natural da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ (0,720 – 0,740) referido por Rosner (2010).

Através dos resultados, verifica-se que a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ da alimentação final não é significativamente diferente da alimentação inicial. Sendo assim, pode dizer-se que não houve permeação preferencial de nenhum dos isótopos de Sr. A razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do permeado é inferior à da alimentação em todos os vinhos tratados por NF, sendo mais notável nos vinhos da DOP Dão. As razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ obtidas no permeado são muito próximas da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ da água, o que seria de esperar, tendo em conta que o permeado é maioritariamente constituído por água. Pearce *et al.* (2015) registaram valores de razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ para a água da chuva em Paris entre 0,70796 e 0,71093, sendo estes próximos dos valores obtidos para os permeados. O facto da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do permeado ser muito próxima da reportada para a água, indica que ambos os isótopos de Sr são maioritariamente rejeitados pela membrana.

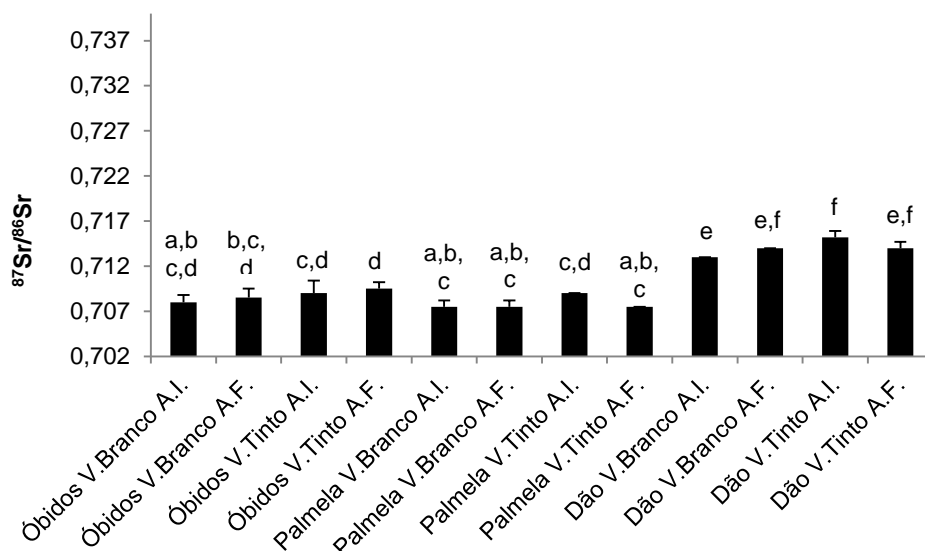


Figura 19 – Razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das fracções de nanofiltração (A.I. – alimentação inicial; A.F. – alimentação final).

As razões $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ apresentadas correspondem à média de duas réplicas independentes e respectivo desvio-padrão. Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes ao nível de significância 0,05.

Na bibliografia consultada, não se encontraram referências sobre a influência da NF na razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Quanto aos efeitos desta operação noutros isótopos pesados existem dados publicados, verificando-se elevadas rejeições. A remoção de Ra^{2+}_{226} , Ra^{2+}_{228} , UO_2^{2+} , $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2^{2-}$, $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ e Rn_{222} por NF de água contaminadas foi estudada, verificando-se rejeições de 99% a todos os isótopos (Mohammad *et al.*, 2014). Através de NF de águas contaminadas, observaram-se ainda elevadas rejeições ao urânio (Favre-Régouillon *et al.*, 2008; Rossiter *et al.*, 2010; Shen e Schäfer, 2014). O complexo de CO(III) com EDTA foi removido de soluções aquosas de borato alcalino por NF, obtendo-se rejeições superiores a 90% para pH superior a 9,5. (Szöke *et al.*, 2005). A rejeição a iões de Co (II), presentes em soluções aquosas, por membranas de NF foi também determinada, sendo cerca de 97% a pH 3 (Gherasim *et al.*, 2015). Em águas subterrâneas contaminadas, efectuou-se a remoção de arsenato (HAsO_4^{2-}) por NF, tendo-se obtido rejeições superiores a 95% (Saitua *et al.*, 2011). De acordo com os resultados publicados, as rejeições a isótopos pesados são elevadas, tanto na forma iónica como em complexo, sendo estas as formas em que o Sr se encontra no vinho.

A influência do processo de vinificação na razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do vinho foi anteriormente estudada, não tendo sido observadas alterações significativas, contudo não se encontraram referências sobre o efeito da NF em particular (Almeida e Vasconcelos, 2004; Marchionni *et al.*, 2015). Nas condições experimentais em que decorreu o trabalho, a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dos vinhos estudados não se alterou significativamente durante a NF. De acordo com os resultados, a NF não é factor impeditivo da utilização da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ como marcador de origem geográfica, confirmando a robustez deste marcador na avaliação da autenticidade do vinho.

V. CONCLUSÕES

No presente trabalho foram realizados ensaios de NF, numa primeira fase com soluções modelo, posteriormente com vinhos de três DOP portuguesas.

A membrana de NF foi especialmente preparada para o efeito e caracterizada, tendo apresentado permeabilidade hidráulica de $0,313 \text{ kg}/(\text{h.m}^2.\text{bar})$ e elevada rejeição aos solutos de referência ($>90\%$). A rejeição ao NaCl (sal monovalente) foi inferior à rejeição aos sais divalentes, comportamento característico das membranas de NF.

Através da permeação a 6 e 15 bar de soluções hidroalcoólicas com diferentes concentrações em etanol (variando entre 8 e 16 %v/v), verificou-se um aumento dos fluxos com o aumento da pressão. Enquanto que na permeação a 6 bar, o fluxo de permeação não variou significativamente com a concentração em etanol na alimentação, na permeação a 15 bar observou-se uma diminuição do fluxo de permeado com o aumento da concentração em etanol na alimentação. Os coeficientes de rejeição ao etanol resultantes da NF a 6 bar, inferiores a 30%, diminuíram com o aumento da percentagem de etanol na alimentação. Para a pressão transmembranar de 15 bar observou-se a mesma tendência, o que significa que a permeabilidade da membrana ao etanol é tanto maior, quanto maior a concentração em etanol na solução inicial. Neste caso, os coeficientes de rejeição foram em geral inferiores a 10%.

A partir da permeação a 15 bar de três soluções quaternárias com diferentes concentrações em etanol, 9, 12 e 16%, com uma concentração em Sr de 0,5 mg/L, com uma concentração em ácido tartárico de 3 g/L e com pH de 3,5, verificou-se que os fluxos resultantes da permeação destas soluções e de soluções-modelo hidroalcoólicas a 15 bar foram muito semelhantes, pelo que se conclui que nem a presença de Sr nem a de ácido tartárico tem algum efeito sobre estes. Observaram-se ainda rejeições elevadas ao Sr (em média 97,0%) e ao ácido tartárico ($>70\%$), enquanto que a rejeição ao etanol foi muito baixa (em média 8,5%). Acrescenta-se que as rejeições ao ácido tartárico aumentaram com o aumento da concentração de etanol na alimentação mas as rejeições ao Sr e ao etanol não se alteraram.

Quanto aos ensaios com vinhos, observou-se, como seria de esperar, que os fluxos de vinhos brancos são superiores aos de vinhos tintos, sendo muito semelhantes para cada tipo de vinho.

No que diz respeito à caracterização físico-química do vinho, o teor alcoólico na alimentação não sofreu alterações significativas durante a NF, contudo o seu valor no permeado é inferior ao da alimentação, indicando que a membrana não permeou água e etanol nas mesmas proporções. Os polissacáridos e os polifenóis foram fortemente rejeitados pela membrana, observando-se um efeito de concentração na alimentação durante a NF, devido à eliminação de água e etanol. A intensidade e tonalidade da cor aumentaram ligeiramente na alimentação com o decorrer da operação. A rejeição aos ácidos tartárico, láctico, málico e acético foi em geral elevada, pelo que a composição acídica do vinho nanofiltrado é semelhante à do vinho original. Para a generalidade dos parâmetros foram observadas alterações, explicadas pelo efeito de concentração.

No caso de se reintroduzir no vinho nanofiltrado a água retirada no permeado, o teor alcoólico reduziria em média 1,5% e os restantes parâmetros apresentariam, em geral, valores mais próximos da alimentação inicial.

Quanto à composição multielementar, em geral observaram-se elevadas rejeições, sendo mais notáveis nos elementos Na, Mg, Al, Rb e Sr, visto estarem presentes em concentrações superiores. Quanto à permeação de Rb e Sr em particular, verificou-se um efeito de concentração da alimentação inicial para a alimentação final, devido à eliminação de água e etanol. Acrescenta-se que os permeados de todos os vinhos apresentaram concentrações em Sr muito baixas.

Nos ensaios realizados, a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ da alimentação final não foi significativamente diferente da alimentação inicial, indicando que não houve permeação preferencial de nenhum dos isótopos de Sr. No permeado, a razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ foi inferior à da alimentação em todos os vinhos tratados por NF, apresentando um valor muito próximo do reportado para a água. De acordo com os resultados obtidos nas condições experimentais deste estudo, a aplicação da operação de NF no processamento do vinho, não é factor limitativo para a utilização da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ como marcador de origem geográfica. Estes resultados confirmam a robustez deste marcador na avaliação da autenticidade do vinho.

Contudo, considera-se necessário reunir mais informação acerca dos efeitos da NF na razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ do vinho em diferentes condições experimentais, nomeadamente, com diferentes membranas de NF e com ensaios à escala industrial.

Para fins de autenticação de vinhos em termos de origem geográfica, importa alargar este estudo a outras práticas enológicas que ainda não foram avaliadas, assim como dar continuação à avaliação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ em solos e vinhos das principais DOP, com vista à sua integração numa futura base de dados internacional.

Este estudo, em particular, constitui um significativo contributo para a avaliação de práticas enológicas na razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ e da sua utilização como marcador de origem geográfica.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida C.M.R., 2002. *Isotopic and multi-element characterisation of wine for identification of lead contamination sources and of the provenance region*. 252 p. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Almeida C.M.R., Vasconcelos M.T.S.D., 2001. ICP-MS determination of strontium isotope ratio in wine in order to be used as a fingerprint of its regional origin. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **16**, 607–611.
- Almeida C.M.R., Vasconcelos M.T.S.D., 2003. Multi-element composition and $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ of wines and their potentialities as fingerprints of wine provenance. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **18**, 15–27.
- Almeida C.M.R., Vasconcelos M.T.S.D., 2004. Does the winemaking process influence the wine $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$? A case study. *Food Chemistry*, **85**, 7–12.
- von Baer D., Rentzsch M., Hitschfeld M.A., Mardones C., Vergara C., Winterhalter P., 2008. Relevance of chromatographic efficiency in varietal authenticity verification of red wines based on their anthocyanin profiles: Interference of pyranoanthocyanins formed during wine ageing. *Analytica Chimica Acta*, **621**, 52–56.
- Baleiras-Couto M.M., Eiras-Dias J.E., 2006. Detection and identification of grape varieties in must and wine using nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Analytica Chimica Acta*, **563**, 283–291.
- Banvolgyi S., Kiss I., Bekassy-Molnar E., Vatai G., 2006. Concentration of red wine by nanofiltration. *Desalination*, **198**, 8–15.
- Barbaste M., Robinson K., Guilfoyle S., Medina B., Lobinski R., 2002. Precise determination of the strontium isotope ratios in wine by inductively coupled plasma sector field multicollector mass spectrometry (ICP-SF-MC-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **17**, 135–137.
- Bejjani J., Balaban M., Rizk T., 2014. A sharper characterization of the geographical origin of Lebanese wines by a new interpretation of the hydrogen isotope ratios of ethanol. *Food Chemistry*, **165**, 134–139.
- Bellanger J., Bouvier J.C., Lab C., 1992. Determination of selenium in wine. Application to several French wines. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **26**, 287–298.
- Berglund M., Wieser M.E., 2011. Isotopic compositions of the elements 2009 (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, **83**, 397–410.
- Boari E., Tommasini S., Mercurio M., Morra V., Mattei M., Mulinacci N., Conticelli S., 2008. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ of some Central and Southern Italian wines and its use as fingerprints for Geographic Provenance. *31st World Congress of Vine and Wine*, 1 – 6.
- Bogianchini M., Cerezo A.B., Gomis A., López F., García-Parrilla M.C., 2011. Stability, antioxidant activity and phenolic composition of commercial and reverse osmosis obtained dealcoholised wines. *LWT - Food Science and Technology*, **44**, 1369–1375.
- Boschetti W., Rampazzo R.T., Dessuy M.B., Vale M.G.R., De Oliveira Rios A., Hertz P., Manfroi V., Celso P.G., Ferrão M.F., 2013. Detection of the origin of Brazilian wines based on the determination of only four elements using high-resolution continuum source flame AAS. *Talanta*, **111**, 147–155.
- Bouloumpasi E., Soufleros E.H., Tsarchopoulos C., Biliaderis C.G., 2002. Primary amino acid composition and its use in discrimination of greek red wines with regard to variety and cultivation region. *Vitis*, **41**, 195–202.

- Cabrita M.J., Ricardo-da-Silva J., Laureano O., 1999. Os Compostos Polifenólicos Das Uvas E Dos Vinhos. *I Seminário Internacional de Vitivinicultura*, 61–102.
- Câmara J.S., Alves M.A., Marques J.C., 2006. Changes in volatile composition of Madeira wines during their oxidative ageing. *Analytica Chimica Acta*, **563**, 188–197.
- Camin F., Dordevic N., Wehrens R., Neteler M., Delucchi L., Postma G., Buydens L., 2015. Climate and Geographical Dependence of the H, C and O Stable Isotope Ratios of Italian Wine. *Analytica Chimica Acta*, **853**, 384–390.
- Capo R.C., Stewart B.W., Chadwick O.A., 1998. Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: theory and methods. *Geoderma*, **82**, 197–225.
- Castro F.P., 2015. *A razão isotópica de estrôncio $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ como marcador de terroir e sua avaliação em vinhos portugueses*. 66 p. Tese de Mestrado, Instituto Superior Técnico.
- Catarino M., Mendes A., 2011. Dealcoholizing wine by membrane separation processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **12**, 330–337.
- Catarino S., 2015. *Compostos voláteis. Composição e Controlo Físico-Químico e Sensorial do Vinho (Mestrado em Viticultura e Enologia, ISA)*, 1–10.
- Catarino S., Capelo J.L., Curvelo-Garcia A.S., Sousa R.B. de, 2006a. Evaluation of contaminant elements in Portuguese wines and original musts by high intensity focused ultrasound combined with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **40**, 91–100.
- Catarino S., Curvelo-Garcia A.S., Sousa R.B. de, 2006b. Measurements of contaminant elements of wines by inductively coupled plasma-mass spectrometry: A comparison of two calibration approaches. *Talanta*, **70**, 1073–1080.
- Catarino S., Curvelo-Garcia A.S., Sousa R.B. de, 2008a. Revisão : Elementos Contaminantes Nos Vinhos Contaminant Elements in Wines : a Review. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **23**, 3–19.
- Catarino S., I.M.Trancoso, Sousa R.B. de, Curvelo-Garcia A.S., 2010. Grape Must Mineralization By High Pressure Microwave Digestion for Trace Element Analysis : Development of a Procedure. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **25**, 87–93.
- Catarino S., Madeira M., Monteiro F., Martins P., Trancoso I.M., Sousa R.B. de, Curvelo-Garcia A.S., 2012. A composição multi-elementar e razões isotópicas como marcadores de origem geográfica de vinhos. *Enovitis*, **29**, 36–39.
- Catarino S., Madeira M., Monteiro F., Rocha F., Curvelo-Garcia A.S., Sousa R.B. de, 2008b. Effect of bentonite characteristics on the elemental composition of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 158–165.
- Catarino S., Madeira M., Monteiro F., Trancoso I.M., Martins P., Sousa R.B. de, Curvelo-Garcia A.S., 2011. Determinação da origem geográfica do vinho com base na sua composição elementar. *XXXIV World Congress of Vine and Wine*, 3–10.
- Coetzee P.P., van Jaarsveld F.P., Vanhaecke F., 2014. Intraregional classification of wine via ICP-MS elemental fingerprinting. *Food Chemistry*, **164**, 485–92.
- Curvelo-Garcia A., 1988. *Controlo de qualidade dos vinhos (Química Enológica - Métodos Analíticos)*. 420 p. Instituto da Vinha e do Vinho, Lisboa.
- Diban N., Arruti A., Barceló A., Puxeu M., Urtiaga A., Ortiz I., 2013. Membrane dealcoholization of different wine varieties reducing aroma losses. Modeling and experimental validation. *Innovative*

- Diban N., Athes V., Bes M., Souchon I., 2008. Ethanol and aroma compounds transfer study for partial dealcoholization of wine using membrane contactor. *Journal of Membrane Science*, **311**, 136–146.
- Dordevic N., Wehrens R., Postma G.J., Buydens L.M.C., Camin F., 2012. Statistical methods for improving verification of claims of origin for Italian wines based on stable isotope ratios. *Analytica Chimica Acta*, **757**, 19–25.
- Ducruet J., Fast-Merlier K., Noilet P., 2010. New Application for Nanofiltration: Reduction of Malic Acid in Grape Must. *American Journal of Enology and Viticulture*, **61**, 278–283.
- Dupin I.V.S., Stockdale V.J., Williams P.J., Jones G.P., Markides A.J., Waters E.J., 2000. Saccharomyces cerevisiae mannoproteins that protect wine from protein haze: Evaluation of extraction methods and immunolocalization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 1086–1095.
- Durante C., Baschieri C., Bertacchini L., Bertelli D., Cocchi M., Marchetti A., Manzini D., Papotti G., Sighinolfi S., 2015. An analytical approach to Sr isotope ratio determination in Lambrusco wines for geographical traceability purposes. *Food Chemistry*, **173**, 557–563.
- Dutra S. V., Adami L., Marcon a. R., Carnieli G.J., Roani C. a., Spinelli F.R., Leonardelli S., Ducatti C., Moreira M.Z., Vanderlinde R., 2011. Determination of the geographical origin of Brazilian wines by isotope and mineral analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **401**, 1575–1580.
- Fabani M.P., Arrúa R.C., Vázquez F., Diaz M.P., Baroni M. V., Wunderlin D.A., 2010. Evaluation of elemental profile coupled to chemometrics to assess the geographical origin of Argentinean wines. *Food Chemistry*, **119**, 372–379.
- Faria M.A., Magalhaes R., Ferreira M.A., Meredith C.P., Monteiro F.F., 2000. Vitis vinifera must varietal authentication using microsatellite DNA analysis (SSR). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 1096–1100.
- Faure G., Hurley P.M., 1963. The Isotopic Composition of Strontium in Oceanic and Continental Basalts: Application to the Origin of Igneous Rocks. *Journal of Petrology*, **4**, 31–50.
- Favre-Régouillon A., Lebizit G., Murat D., Foos J., Mansour C., Draye M., 2008. Selective removal of dissolved uranium in drinking water by nanofiltration. *Water research*, **42**, 1160–6.
- Fernandes J.R., Pereira L., Jorge P., Moreira L., Gonçalves H., Coelho L., Alexandre D., Eiras-Dias J., Brazão J., Clímaco P., Baleiras-Couto M., Catarino S., Graça A., Martins-Lopes P., 2015. Wine fingerprinting using a bio-geochemical approach. *BIO Web of Conferences*, **5**, 1 – 4.
- Ferreira R.B., Piçarra-Pereira M.A., Monteiro S., Loureiro V.B., Teixeira A.R., 2001. The wine proteins. *Trends in Food Science and Technology*, **12**, 230–239.
- Frías S., Diaz C., Conde J.E., Perez-Trujillo J.P., 2003. Selenium and mercury concentrations in sweet and dry bottled wines from the Canary Islands, Spain. *Food Additives and Contaminants*, **20**, 237–240.
- Garcia F.S.S., 2012. *Concentração de Vinho Tinto por Nanofiltração Estudo das modificações químicas e sensoriais*. 54 p. Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia.
- García-Beneytez E., Moreno-Arribas M. V., Borrego J., Polo M.C., Ibáñez J., 2002. Application of a DNA analysis method for the cultivar identification of grape musts and experimental and commercial wines of Vitis vinifera L. using microsatellite markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 6090–6096.

- García-Jares C., Médina B., 1993. Research on white and red wine blending in the production of rosé wines by means of the partial least squares method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **63**, 349–354.
- García-Martín N., Palacio L., Prádanos P., Hernández A., Ortega-Heras M., Pérez-Magariño S., González-Huerta D.C., 2009. Evaluation of several ultra- and nanofiltration membranes for sugar control in winemaking. *Desalination*, **245**, 554–558.
- García-Martín N., Perez-Magariño S., Ortega-Heras M., González-Huerta C., Mihnea M., González-Sanjosé M.L., Palacio L., Prádanos P., Hernández A., 2010. Sugar reduction in musts with nanofiltration membranes to obtain low alcohol-content wines. *Separation and Purification Technology*, **76**, 158–170.
- Gherasim C., Hancková K., Mikulá P., 2015. Investigation of cobalt (II) retention from aqueous solutions by a polyamide nano filtration membrane. *Journal of Membrane Science*, **490**, 46–56.
- Gonçalves F., 2002. *Optimização da clarificação e estabilização tartárica de vinhos por processos de membranas. Influência das macromoléculas e da composição iónica*. 2-14 p. Tese de Doutoramento, Instituto Superior Técnico.
- Gonçalves F., Fernandes C., Pinho M.N. de, 2001. White wine clarification by micro/ultrafiltration: Effect of removed colloids in tartaric stability. *Separation and Purification Technology*, **22-23**, 423–429.
- Gonçalves F., Ribeiro R., Neves L., Lemperle T., Ricardo-da-Silva J.M., Laureano O., 2010. Desalcoolização de Vinhos por Nanofiltração. *Revista da Associação Portuguesa de Enologia*, **55/56**, 8–16.
- González G., Peña-Méndez E.M., 2000. Multivariate data analysis in classification of must and wine from chemical measurements. *European Food Research and Technology*, **212**, 100–107.
- González-Neves G., Barreiro L., Gil G., Franco J., Ferrer M., Moutounet M., Carbonneau a., 2004. Anthocyanic composition of Tannat grapes from the south region of Uruguay. *Analytica Chimica Acta*, **513**, 197–202.
- Gorokhov I.M., Semikhatov M.A., Turchenko T.L., Petrov P.Y., Mel'nikov N.N., Konstantinova G. V., Kutyavin E.P., 2010. Rb-Sr Geochronology of Vendian Shales, the Staraya Rechka Formation, Anabar Massif, Northern Siberia. *Stratigraphy and Geological Correlation*, **18**, 480–491.
- Greenough J.D., Longerich H.P., Jackson S.E., 1997. Element fingerprinting of Okanagan Valley wines using ICP – MS: Relationships between wine composition, vineyard and wine colour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, **3**, 75–83.
- Gremaud G., Quaille S., Piantini U., Pfammatter E., Corvi C., 2004. Characterization of Swiss vineyards using isotopic data in combination with trace elements and classical parameters. *European Food Research and Technology*, **219**, 97–104.
- Horn P., Hölzl S., Todt W., Matthies D., 1997. Isotope Abundance Ratios of Sr In Wine Provenance Determinations, in A Tree-Root Activity Study, and Of Pb in A Pollution Study on Tree-Rings. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, **33**, 31–42.
- Horn P., Schaaf P., Holbach B., Hölzl S., Eschnauer H., 1993. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ from rock and soil into vine and wine. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, **196**, 407–409.
- Ilna S.M., Viers J., Lapitsky S.A., Mialle S., Mavromatis V., Chmeleff J., Brunet P., Alekhin Y. V., Isnard H., Pokrovsky O.S., 2013. Stable (Cu, Mg) and radiogenic (Sr, Nd) isotope fractionation in colloids of boreal organic-rich waters. *Chemical Geology*, **342**, 63–75.

- Jakubowski N., Brandt R., Stuewer D., Eschnauer H.R., Görtges S., 1999. Analysis of wines by ICP-MS: Is the pattern of the rare earth elements a reliable fingerprint for the provenance? *Journal of Analytical Chemistry*, **364**, 424–428.
- Jos A., Moreno I., González A.G., Repetto G., Cameán A.M., 2004. Differentiation of sparkling wines (cava and champagne) according to their mineral content. *Talanta*, **63**, 377–382.
- Kallithraka S., Arvanitoyannis I., El-Zajouli A., Kefalas P., 2001. The application of an improved method for trans-resveratrol to determine the origin of Greek red wines. *Food Chemistry*, **75**, 355–363.
- Khayet M., 2013. Treatment of radioactive wastewater solutions by direct contact membrane distillation using surface modified membranes. *Desalination*, **321**, 60–66.
- Kunst B., Sourirajan S., 1970. Performance of some improved porous cellulose acetate membranes for low pressure reverse osmosis desalination. *Desalination*, **8**, 139–152.
- Labanda J., Sabaté J., Llorens J., 2013. Permeation of organic solutes in water-ethanol mixtures with nanofiltration membranes. *Desalination*, **315**, 83–90.
- Lança M., 2011. *Desalcoolização Parcial de vinhos por Nanofiltração e Osmose Inversa. Efeito do nível de desalcoolização*. 71 p. Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia.
- Larsen E.H., Andersen N.L., Moller A., Petersen A., Mortensen G.K., Petersen J., 2002. Monitoring the content and intake of trace elements from food in Denmark. *Food Additives & Contaminants*, **19**, 33–46.
- Liguori L., Russo P., Albanese D., Di Matteo M., 2013. Evolution of quality parameters during red wine dealcoholization by osmotic distillation. *Food Chemistry*, **140**, 68–75.
- Lipnizki F., 2010. Cross-Flow Membrane Applications in the Food Industry. In: *Membranes for Food Applications - Volume 3*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Makris D.P., Kallithraka S., Mamalos A., 2006. Differentiation of young red wines based on cultivar and geographical origin with application of chemometrics of principal polyphenolic constituents. *Talanta*, **70**, 1143–1152.
- Marchionni S., Buccianti A., Bollati A., Braschi E., Cifelli F., Molin P., Parotto M., Mattei M., Tommasini S., Conticelli S., 2015. Conservation of $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotopic ratios during the winemaking processes of “Red” wines to validate their use as geographic tracer. *Food Chemistry*, **190**, 777–785.
- Mardones C., Hitschfeld A., Contreras A., Lepe K., Gutiérrez L., Von Baer D., 2005. Comparison of shikimic acid determination by capillary zone electrophoresis with direct and indirect detection with liquid chromatography for varietal differentiation of red wines. *Journal of Chromatography A*, **1085**, 285–292.
- Martinelli L.A., Moreira M.Z., Ometto J.P.H.B., Alcarde A.R., Rizzon L.A., Stange E., Ehleringer J.R., 2003. Stable Carbon Isotopic Composition of the Wine and CO₂ Bubbles of Sparkling Wines: Detecting C₄ Sugar Additions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 2625–2631.
- Martins P., 2012. *Determinação da razão isotópica $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ por ICP-MS no sistema solo-vinho*. 32 p. Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia.
- Martins P., Madeira M., Monteiro F., Sousa R.B. de, Curvelo-Garcia A.S., Catarino S., 2014. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Ratio in vineyards soils from portuguese denominations of origin and its potencial for origin authentication. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **48**, 21–29.

- Massot A., Mietton-Peuchot M., Peuchot C., Milisic V., 2008. Nanofiltration and reverse osmosis in winemaking. *Desalination*, **231**, 283–289.
- Matsunaga T., Ishii T., 2004. Characterization of metal binding properties of rhamnogalacturonan II from plant cell walls by size-exclusion HPLC/ICP-MS. *Analytical sciences*, **20**, 1389–1393.
- Mercurio M., Grilli E., Odierna P., Morra V., Prohaska T., Coppola E., Grifa C., Buondonno A., Langella A., 2014. A “Geo-Pedo-Fingerprint” (GPF) as a tracer to detect univocal parent material-to-wine production chain in high quality vineyard districts, Campi Flegrei (Southern Italy). *Geoderma*, **230-231**, 67–78.
- Michod J., 1959. *Revue Romande d'Agriculture, de Viticulture et d'Arboriculture*, **15**, 85.
- Mihaljevič M., Ettler V., Šebek O., Strnad L., Chrastný V., 2006. Lead isotopic signatures of wine and vineyard soils—tracers of lead origin. *Journal of Geochemical Exploration*, **88**, 130–133.
- Minhalma M., 2001. *Síntese e Optimização de Processos de Recuperação de Águas Residuais Industriais com Integração de Ultrafiltração e Nanofiltração*. 319 p. Tese de Doutorado, Instituto Superior Técnico.
- Mohammad A.W., Teow Y.H., Ang W.L., Chung Y.T., Oatley-Radcliffe D.L., Hilal N., 2014. Nanofiltration membranes review: Recent advances and future prospects. *Desalination*, **356**, 226–254.
- Nasi A., Ferranti P., Amato S., Chianese L., 2008. Identification of free and bound volatile compounds as typicalness and authenticity markers of non-aromatic grapes and wines through a combined use of mass spectrometric techniques. *Food Chemistry*, **110**, 762–768.
- Nicolini G., Larcher R., Pangrazzi P., Bontempo L., 2004. Changes in the contents of micro- and trace-elements in wine due to winemaking treatments. *Vitis*, **43**, 41–45.
- OIV, 2015. *International Code of Oenological Practices*. p. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, Paris.
- Oliveira J.M., Araújo I.M., Pereira Ó.M., Maia J.S., Amaral A.J., Maia M.O., 2004. Characterization and differentiation of five “vinhos Verdes” grape varieties on the basis of monoterpenic compounds. *Analytica Chimica Acta*, **513**, 269–275.
- Oliveira J.M., Faria M., Sá F., Barros F., Araújo I.M., 2006. C6-alcohols as varietal markers for assessment of wine origin. *Analytica Chimica Acta*, **563**, 300–309.
- Palade M., Popa M., 2014. Wine Traceability and Authenticity - A Literature Review. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, **XVIII**, 226 – 233.
- Di Paola-Naranjo R.D., Baroni M. V., Podio N.S., Rubinstein H.R., Fabani M.P., Badini R.G., Inga M., Ostera H.A., Cagnoni M., Gallegos E., Gautier E., Peral-García P., Hoogewerff J., Wunderlin D.A., 2011. Fingerprints for main varieties of argentinean wines: Terroir differentiation by inorganic, organic, and stable isotopic analyses coupled to chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, 7854–7865.
- Pearce C.R., Parkinson I.J., Gaillardet J., Chetelat B., Burton K.W., 2015. Characterising the stable ($\delta^{88}\text{Sr}/\delta^{86}\text{Sr}$) and radiogenic ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) isotopic composition of strontium in rainwater. *Chemical Geology*, **409**, 54–60.
- Pellerin P., Cabanis J.C., 1998. *Oenologie. Fondements scientifiques et technologiques*. 40-92 p. Flanzky C. Lavoisier- Tec & Doc, Paris.
- Pellerin P., Doco T., Vidal S., Williams P., Brillouet J.M., O'Neill M. a., 1996. Structural

- characterization of red wine rhamnogalacturonan II. *Carbohydrate Research*, **290**, 183–197.
- Pellerin P., Vidal S., Williams P., Brillouet J.M., 1995. Characterization of 5-type-II arabinogalactan-protein fractions from red wine of increasing uronic-acid content. *Carbohydrate Research*, **277**, 135–143.
- Pérez-Magariño S., Ortega-Heras M., Bueno-Herrera M., Martínez-Lapiente L., Guadalupe Z., Ayestarán B., 2015. Grape variety, aging on lees and aging in bottle after disgorging influence on volatile composition and foamability of sparkling wines. *LWT - Food Science and Technology*, **61**, 47–55.
- Petrini R., Sansone L., Slejko F.F., Buccianti A., Marcuzzo P., Tomasi D., 2014. The $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ strontium isotopic systematics applied to Glera vineyards: a tracer for the geographical origin of the Prosecco. *Food Chemistry*, **170**, 138–144.
- Peuchot M.M., 2010. New Applications for Membrane Technologies in Enology. In: *Membranes for Food Applications - Volume 3*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Pinho M.N. de, 2010. Membrane Processes in Must and Wine Industries. In: *Membranes for Food Applications - Volume 3*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Pinho M.N. de, Geraldés V., Catarino I., 2007. Method for Simultaneous Concentration and Rectification of Grape Must using Nanofiltration and Electrodialysis, PCT PT 2007/000045.
- Pinho M.N. de, Geraldés V., Minhalma L.M., 2012. *Integração de Operações de Membranas em Processos Químicos – Dimensionamento e Optimização de Equipamentos*. 24 - 59 p. Instituto Superior Técnico, Lisboa.
- Pisano P.L., Silva M.F., Olivieri A.C., 2015. Anthocyanins as markers for the classification of Argentinean wines according to botanical and geographical origin. Chemometric modeling of liquid chromatography-mass spectrometry data. *Food chemistry*, **175**, 174–80.
- Pohl P., 2007. What do metals tell us about wine? *Trends in Analytical Chemistry*, **26**, 941–949.
- Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., 1947. *Analyse et Contrôle des Vins*. p. Paris Liège - Libr. Polytechnique Ch. Béranger, Paris.
- Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A., 2006. *Handbook of Enology - The Chemistry of Wine; Stabilization and Treatments*. 404 p. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester.
- Rosner M., 2010. Geochemical and instrumental fundamentals for accurate and precise strontium isotope data of food samples: Comment on “Determination of the strontium isotope ratio by ICP-MS ginseng as a tracer of regional origin” (Choi et al., 2008). *Food Chemistry*, **121**, 918–921.
- Rossiter H.M.A., Graham M.C., Schäfer A.I., 2010. Impact of speciation on behaviour of uranium in a solar powered membrane system for treatment of brackish groundwater. *Separation and Purification Technology*, **71**, 89–96.
- Rummel S., Hoelzl S., Horn P., Rossmann A., Schlicht C., 2010. The combination of stable isotope abundance ratios of H, C, N and S with $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ for geographical origin assignment of orange juices. *Food Chemistry*, **118**, 890–900.
- Saitua H., Gil R., Padilla A.P., 2011. Experimental investigation on arsenic removal with a nanofiltration pilot plant from naturally contaminated groundwater. *Desalination*, **274**, 1–6.
- Salehi F., 2014. Current and future applications for nanofiltration technology in the food processing. *Food and Bioproducts Processing*, **92**, 161–177.
- Salgado C., Carmona F.J., Palacio L., Prádanos P., Hernández A., 2012. Evaluation of Nanofiltration

- Membranes for Sugar Reduction in Red Grape Must. *Procedia Engineering*, **44**, 1716–1717.
- Salgado C., Palacio L., Carmona F.J., Hernández A., Prádanos P., 2013. Influence of low and high molecular weight compounds on the permeate flux decline in nanofiltration of red grape must. *Desalination*, **315**, 124–134.
- Segarra I., Lao C., López-Tamames E., Torre-Boronat M.C. de la, 1995. Spectrophotometric Methods for the Analysis of Polysaccharide Levels in Winemaking Products. *American Journal of Enology and Viticulture*, **46**, 564 – 570.
- Severo J.B., Almeida S.S., Narain N., Souza R.R., Santana J.C.C., Tambourgi E.B., 2007. Wine clarification from Spondias mombin L. pulp by hollow fiber membrane system. *Process Biochemistry*, **42**, 1516–1520.
- Shen J., Schäfer A., 2014. Removal of fluoride and uranium by nanofiltration and reverse osmosis: A review. *Chemosphere*, **117**, 679–691.
- Siret R., Gigaud O., Rosec J.P., This P., 2002. Analysis of grape *Vitis vinifera* L. DNA in must mixtures and experimental mixed wines using microsatellite markers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 3822–3827.
- Somers T.C., Evans M.E., 1977. Spectral Evaluation of Young Red Wines: Anthocyanin Equilibria, Total Phenolics, Free and Molecular SO₂, “Chemical Age.” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **28**, 279 – 287.
- Soufleros E.H., Bouloumpasi E., Tsarchopoulos C., Biliaderis C.G., 2003. Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage. *Food Chemistry*, **80**, 261–273.
- De Sousa M.B., Pinho M.N. de, Dos Santos P.C., 2014. The role of polysaccharides on the grape must ultrafiltration performance. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, **29**, 16–27.
- Stewart B.W., Capo R.C., Chadwick O. a., 1998. Quantitative strontium isotope models for weathering, pedogenesis and biogeochemical cycling. *Geoderma*, **82**, 173–195.
- Szöke S., Pátzay G., Weiser L., 2005. Cobalt(III) EDTA complex removal from aqueous alkaline borate solutions by nanofiltration. *Desalination*, **175**, 179–185.
- Takács L., Vatai G., Korány K., 2007. Production of alcohol free wine by pervaporation. *Journal of Food Engineering*, **78**, 118–125.
- Thiel G., Geisler G., Blechschmidt I., Danzer K., 2004. Determination of trace elements in wines and classification according to their provenance. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **378**, 1630–6.
- Urkiaga A., De Las Fuentes L., Acilu M., Uriarte J., 2002. Membrane comparison for wine clarification by microfiltration. *Desalination*, **148**, 115–120.
- Vanhaecke F., Moens L., Dams R., Allen L., Georgitis S., 1999. Evaluation of the isotope ratio performance of an axial time-of-flight ICP mass spectrometer. *Analytical Chemistry*, **71**, 3297–3303.
- Varavuth S., Jiraratananon R., Atchariyawut S., 2009. Experimental study on dealcoholization of wine by osmotic distillation process. *Separation and Purification Technology*, **66**, 313–321.
- Verhoef A., Figoli A., Leen B., Bettens B., Drioli E., Van der Bruggen B., 2008. Performance of a nanofiltration membrane for removal of ethanol from aqueous solutions by pervaporation. *Separation and Purification Technology*, **60**, 54–63.
- Versari A., Ferrarini R., Parpinello G.P., Galassi S., 2003. Concentration of Grape Must by

Nanofiltration Membranes. *Food and Bioproducts Processing*, **81**, 275–278.

De Villiers A., Vanhoenacker G., Majek P., Sandra P., 2004. Determination of anthocyanins in wine by direct injection liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and classification of wines using discriminant analysis. *Journal of Chromatography A*, **1054**, 195–204.

Vorster C., Greeff L., Coetzee P.P., 2010. The Determination of $^{11}\text{B} / ^{10}\text{B}$ and $^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$ Isotope Ratios by Quadrupole-Based ICP-MS for the Fingerprinting of South African Wine. *South African Journal of Chemistry*, **63**, 207–214.

Wisniak J., 2013. Gustav Charles Bonaventure Chancel. *Educación Química*, **24**, 23–30.

VII. DIVULGAÇÃO DO CONHECIMENTO

Comunicação oral em encontro científico

Catarino S.; Moreira C.; Sousa R.B. de; Curvelo-Garcia A.S.; Pinho M.N. de; Ricardo-da-Silva J.M., 2015. Avaliação da Proveniência Geográfica do Vinho. *In*: Programa e Resumos (p.21) do Simpósio Vitivinícola Regiões de Lisboa, Tejo e Península de Setúbal, 19 e 20 de Novembro 2015 Almeirim.

VIII. ANEXOS

Anexo 1 – Volumes de EDTA 0,1 M (pH 7,0) adicionados às amostras digeridas

Tabela 37 – Volumes de EDTA 0,1 M (pH 7,0) adicionados às amostras e volumes finais das amostras diluídas
(A.I. – Alimentação inicial; A.F. – Alimentação final; P. – Permeado).

Amostra	V _{EDTA 0,1 M pH 7,0} (mL)	V _{final amostra diluída} (mL)
Óbidos V.Branco	14,1	22,1
Óbidos V.Branco A.I.	9,1	17,1
Óbidos V.Branco A.I. (2)	22,9	30,9
Óbidos V.Branco A.F.	11,4	19,4
Óbidos V.Branco A.F. (2)	10,0	18,0
Óbidos V.Branco P.	26,4	34,4
Palmela V.Branco	2,3	10,3
Palmela V.Branco A.I.	3,5	11,5
Palmela V.Branco A.F.	10,2	18,2
Palmela V.Branco P.	27,0	35,0
Dão V.Branco	2,4 ⁵	10,4
Dão V.Branco (2)	2,3 ⁶	10,3
Dão V.Branco A.I.	2,2	10,2
Dão V.Branco A.F.	5,6	13,6
Dão V.Branco P.	27,4	35,4
Óbidos V.Tinto	21,4	29,4
Óbidos V.Tinto A.I.	19,5	27,5
Óbidos V.Tinto A.F.	11,3	19,3
Óbidos V.Tinto P.	22,5	30,5
Palmela V.Tinto	24,9	32,9
Palmela V.Tinto A.I.	8,9	16,9
Palmela V.Tinto A.F.	16,5	24,5
Palmela V.Tinto P.	17,8	25,8
Dão V.Tinto	5,0 ⁷	13,0
Dão V.Tinto (2)	21,1	29,1
Dão V.Tinto A.I.	20,3	28,3
Dão V.Tinto A.I. (2)	3,7	11,7
Dão V.Tinto A.F.	19,3	27,3
Dão V.Tinto P.	27,4	35,4

(2) Duplicado efectuado a partir da digestão das amostras.

⁵ Adicionaram-se 2 gotas de HNO₃ a 5%

⁶ Adicionou-se 1 gota de HNO₃ a 5%

⁷ Adicionaram-se 10 gotas de HNO₃ a 5%

Anexo 2 – Rectas de calibração dos solutos de referência

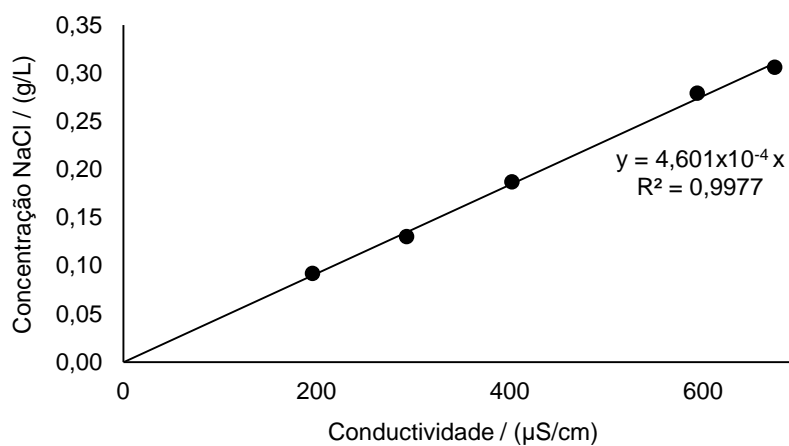


Figura 20 – Recta de calibração do cloreto de sódio.

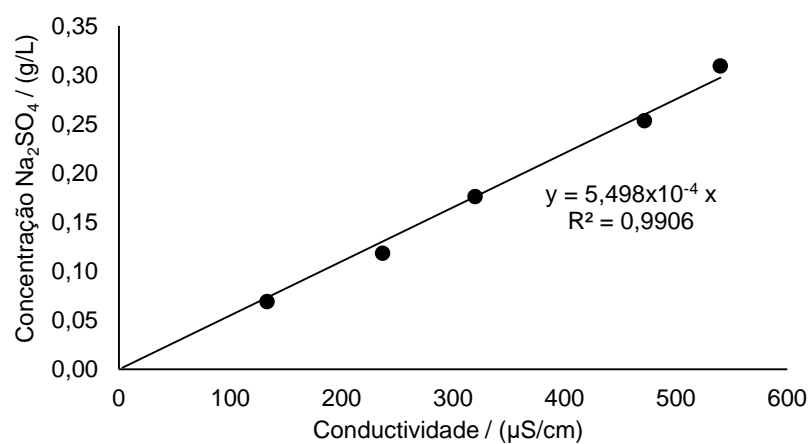


Figura 21 – Recta de calibração do sulfato de sódio.

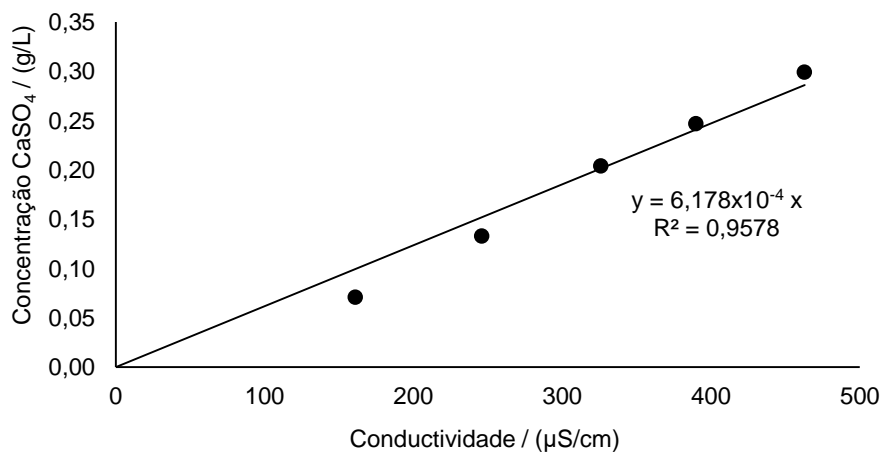


Figura 22 – Recta de calibração do sulfato de cálcio.

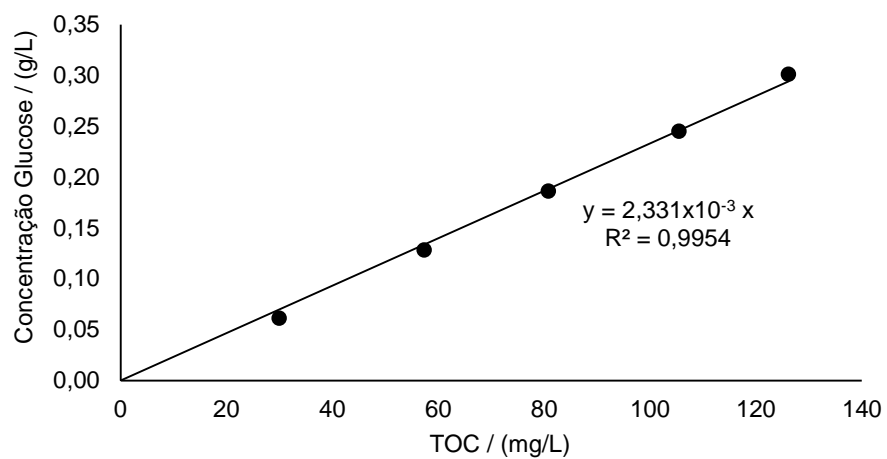


Figura 23 – Recta de calibração da glucose.

Anexo 3 – Análise estatística das razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ de vinhos e frações de nanofiltração

Tabela 38 – Teste LSD e p-values das razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ dos vinhos.

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
	0,7085	0,7075	0,71283	0,7075	0,70933	0,715
Palmela V.Branco {1}		0,196096	$6,62 \times 10^{-6}$	0,196096	0,235452	$1,38 \times 10^{-7}$
Óbidos V.Branco {2}	0,196096		$6,82 \times 10^{-7}$	1,000000	0,016958	$2,55 \times 10^{-8}$
Dão V.Branco {3}	$6,62 \times 10^{-6}$	$6,82 \times 10^{-7}$		$6,82 \times 10^{-7}$	$1,37 \times 10^{-5}$	$5,22 \times 10^{-4}$
Palmela V.Tinto {4}	0,196096	1,000000	$6,82 \times 10^{-7}$		0,016958	$2,55 \times 10^{-8}$
Óbidos V.Tinto {5}	0,235452	0,016958	$1,37 \times 10^{-5}$	0,016958		$1,58 \times 10^{-7}$
Dão V.Tinto {6}	$1,38 \times 10^{-7}$	$2,55 \times 10^{-8}$	$5,22 \times 10^{-4}$	$2,55 \times 10^{-8}$	$1,58 \times 10^{-7}$	

Tabela 39 – Teste LSD e p-values das razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das frações de nanofiltração.

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
	0,7075	0,7075	0,7065	0,708	0,7085	0,707	0,713	0,714	0,708
Palmela V.Branco A.I. {1}		1,000000	0,290267	0,538421	0,223750	0,593831	$3,34 \times 10^{-6}$	$2,32 \times 10^{-7}$	0,593831
Palmela V.Branco A.F. {2}	1,000000		0,290267	0,538421	0,223750	0,593831	$3,34 \times 10^{-6}$	$2,32 \times 10^{-7}$	0,593831
Palmela V.Branco P. {3}	0,290267	0,290267		0,073044	0,019556	0,593831	$2,32 \times 10^{-7}$	$1,86 \times 10^{-8}$	0,117643
Óbidos V.Branco A.I. {4}	0,538421	0,538421	0,073044		0,452033	0,223750	$1,59 \times 10^{-6}$	$7,73 \times 10^{-8}$	1,000000
Óbidos V.Branco A.F. {5}	0,223750	0,223750	0,019556	0,452033		0,073044	$7,68 \times 10^{-6}$	$3,42 \times 10^{-7}$	0,538421
Óbidos V.Branco P. {6}	0,593831	0,593831	0,593831	0,223750	0,073044		$8,66 \times 10^{-7}$	$6,44 \times 10^{-8}$	0,290267
Dão V.Branco A.I. {7}	$3,34 \times 10^{-6}$	$3,34 \times 10^{-6}$	$2,32 \times 10^{-7}$	$1,59 \times 10^{-6}$	$7,68 \times 10^{-6}$	$8,66 \times 10^{-7}$		0,290267	$1,32 \times 10^{-5}$
Dão V.Branco A.F. {8}	$2,32 \times 10^{-7}$	$2,32 \times 10^{-7}$	$1,86 \times 10^{-8}$	$7,73 \times 10^{-8}$	$3,42 \times 10^{-7}$	$6,44 \times 10^{-8}$	0,290267		$8,66 \times 10^{-7}$
Dão V.Branco P. {9}	0,593831	0,593831	0,117643	1,000000	0,538421	0,290267	$1,32 \times 10^{-5}$	$8,66 \times 10^{-7}$	
Palmela V.Tinto A.I. {10}	0,117643	0,117643	0,012228	0,223750	0,538421	0,040487	$2,16 \times 10^{-4}$	$1,32 \times 10^{-5}$	0,290267
Palmela V.Tinto A.F. {11}	1,000000	1,000000	0,290267	0,538421	0,223750	0,593831	$3,34 \times 10^{-6}$	$2,32 \times 10^{-7}$	0,593831
Palmela V.Tinto P. {12}	0,593831	0,593831	0,117643	1,000000	0,538421	0,290267	$1,32 \times 10^{-5}$	$8,66 \times 10^{-7}$	1,000000
Óbidos V.Tinto A.I. {13}	0,117643	0,117643	0,012228	0,223750	0,538421	0,040487	$2,16 \times 10^{-4}$	$1,32 \times 10^{-5}$	0,290267
Óbidos V.Tinto A.F. {14}	0,040487	0,040487	0,003358	0,073044	0,223750	0,012228	$8,66 \times 10^{-4}$	$5,33 \times 10^{-5}$	0,117643
Óbidos V.Tinto P. {15}	0,290267	0,290267	0,040487	0,538421	1,000000	0,117643	$5,33 \times 10^{-5}$	$3,34 \times 10^{-6}$	0,593831
Dão V.Tinto A.I. {16}	$6,30 \times 10^{-10}$	$6,30 \times 10^{-10}$	$5,31 \times 10^{-11}$	$3,91 \times 10^{-11}$	$1,71 \times 10^{-10}$	$1,79 \times 10^{-10}$	0,009551	0,131459	$2,34 \times 10^{-9}$
Dão V.Tinto A.F. {17}	$1,93 \times 10^{-8}$	$1,93 \times 10^{-8}$	$1,44 \times 10^{-9}$	$2,81 \times 10^{-9}$	$1,3 \times 10^{-8}$	$5,15 \times 10^{-9}$	0,127123	0,696546	$7,54 \times 10^{-8}$
Dão V.Tinto P. {18}	0,117643	0,117643	0,012228	0,223750	0,538421	0,040487	$2,16 \times 10^{-4}$	$1,32 \times 10^{-5}$	0,290267

Tabela 40 – Teste LSD e p-values das razões isotópicas $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ das fracções de nanofiltração – continuação.

	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}
	0,709	0,7075	0,708	0,709	0,7095	0,7085	0,71525	0,71433	0,709
Palmela V.Branco A.I. {1}	0,117643	1,000000	0,593831	0,117643	0,040487	0,290267	$6,30 \times 10^{-10}$	$1,93 \times 10^{-8}$	0,117643
Palmela V.Branco A.F. {2}	0,117643	1,000000	0,593831	0,117643	0,040487	0,290267	$6,30 \times 10^{-10}$	$1,93 \times 10^{-8}$	0,117643
Palmela V.Branco P. {3}	0,012228	0,290267	0,117643	0,012228	0,003358	0,040487	$5,31 \times 10^{-11}$	$1,44 \times 10^{-9}$	0,012228
Óbidos V.Branco A.I. {4}	0,223750	0,538421	1,000000	0,223750	0,073044	0,538421	$3,91 \times 10^{-11}$	$2,81 \times 10^{-9}$	0,223750
Óbidos V.Branco A.F. {5}	0,538421	0,223750	0,538421	0,538421	0,223750	1,000000	$1,71 \times 10^{-10}$	$1,33 \times 10^{-8}$	0,538421
Óbidos V.Branco P. {6}	0,040487	0,593831	0,290267	0,040487	0,012228	0,117643	$1,79 \times 10^{-10}$	$5,15 \times 10^{-9}$	0,040487
Dão V.Branco A.I. {7}	$2,16 \times 10^{-4}$	$3,34 \times 10^{-6}$	$1,32 \times 10^{-5}$	$2,16 \times 10^{-4}$	$8,66 \times 10^{-4}$	$5,33 \times 10^{-5}$	0,009551	0,127123	$2,16 \times 10^{-4}$
Dão V.Branco A.F. {8}	$1,32 \times 10^{-5}$	$2,32 \times 10^{-7}$	$8,66 \times 10^{-7}$	$1,32 \times 10^{-5}$	$5,33 \times 10^{-5}$	$3,34 \times 10^{-6}$	0,131459	0,696546	$1,32 \times 10^{-5}$
Dão V.Branco P. {9}	0,290267	0,593831	1,000000	0,290267	0,117643	0,593831	$2,34 \times 10^{-9}$	$7,54 \times 10^{-8}$	0,290267
Palmela V.Tinto A.I. {10}		0,117643	0,290267	1,000000	0,593831	0,593831	$3,74 \times 10^{-8}$	$1,32 \times 10^{-6}$	1,000000
Palmela V.Tinto A.F. {11}	0,117643		0,593831	0,117643	0,040487	0,290267	$6,30 \times 10^{-10}$	$1,93 \times 10^{-8}$	0,117643
Palmela V.Tinto P. {12}	0,290267	0,593831		0,290267	0,117643	0,593831	$2,34 \times 10^{-9}$	$7,54 \times 10^{-8}$	0,290267
Óbidos V.Tinto A.I. {13}	1,000000	0,117643	0,290267		0,593831	0,593831	$3,74 \times 10^{-8}$	$1,32 \times 10^{-6}$	1,000000
Óbidos V.Tinto A.F. {14}	0,593831	0,040487	0,117643	0,593831		0,290267	$1,62 \times 10^{-7}$	$5,86 \times 10^{-6}$	0,593831
Óbidos V.Tinto P. {15}	0,593831	0,290267	0,593831	0,593831	0,290267		$9,11 \times 10^{-9}$	$3,09 \times 10^{-7}$	0,593831
Dão V.Tinto A.I. {16}	$3,74 \times 10^{-8}$	$6,30 \times 10^{-10}$	$2,34 \times 10^{-9}$	$3,74 \times 10^{-8}$	$1,62 \times 10^{-7}$	$9,11 \times 10^{-9}$		0,206568	$3,74 \times 10^{-8}$
Dão V.Tinto A.F. {17}	$1,32 \times 10^{-6}$	$1,93 \times 10^{-8}$	$7,54 \times 10^{-8}$	$1,32 \times 10^{-6}$	$5,86 \times 10^{-6}$	$3,09 \times 10^{-7}$	0,206568		$1,32 \times 10^{-6}$
Dão V.Tinto P. {18}	1,000000	0,117643	0,290267	1,000000	0,593831	0,593831	$3,74 \times 10^{-8}$	$1,32 \times 10^{-6}$	