

Previsão do Grau de Desionização para a Estabilização Tartárica de Vinhos

Otimização e Validação do Teste de Congelação-Descongelação
Controlada

Inês Rodrigues Martins

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Química

Orientadores: Professor Doutor Vitor Manuel Geraldês Fernandes (IST-UL)
Doutor Rui de Brito Estrela (*Wineinova, Lda*)

Júri

Presidente: Professora Doutora Maria Matilde Soares Duarte Marques (IST-UL)
Orientador: Professor Doutor Vitor Manuel Geraldês Fernandes (IST-UL)
Vogal: Doutor Paulo Jorge Ferreira Cameira Dos Santos (INIAV)

Mai 2019

Agradecimentos

Começo por agradecer ao meu orientador, o professor Vítor Geraldês, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela disponibilidade, orientação, partilha de conhecimento e apoio em toda esta jornada.

Ao Doutor Rui Estrela, pela oportunidade de trabalhar com a *Wineinova, Lda* e pela disponibilização do equipamento *StabilPro*, das amostras de vinho e respetivas análises.

A todos os que cruzaram o meu caminho, me ajudaram a crescer enquanto pessoa e estiveram sempre presentes durante todos os momentos.

Acima de tudo aos meus pais, pela sua amizade, carinho, compreensão e muita paciência ao longo de todos os anos. Por sempre me encorajarem a voar mais alto e a lutar por alcançar vitórias maiores, sem eles isto não seria possível.

À minha irmã, por tornar tudo um bocadinho mais leve mesmo nos momentos mais difíceis e me mostrar que existe sempre uma forma de ultrapassar todas as dificuldades, leve o tempo que levar.

A toda a restante família que sempre se mostrou compreensiva nas diversas vezes em que não pude estar presente e que sempre demonstrou todo o seu apoio e carinho.

A quem esteve comigo durante todo o percurso, tornando o caminho mais fácil.

Aos meus colegas de laboratório pelo excelente ambiente de trabalho que me proporcionaram, por todo o auxílio prestado e pela amizade.

À Patrícia por todo o apoio, carinho, boa disposição, paciência e acima de tudo pela amizade que sempre demonstrou.

Ao meu namorado, João, pela sua paciência, amizade, companhia e cumplicidade que nunca faltaram.

A todos, muito obrigado!

Abstract

The aim of this work is the optimization and validation of the new controlled freeze-thawing test (CFT) to predict the deionization degree to impose in electro dialysis for wine tartaric stabilization.

In its optimization a variety of factors that could influence the deionization degree prediction were studied, using 5 wines from the regions of Setúbal, Bucelas and Douro. Factors like the agitation, the variation of the freezing temperature and the volume of water that promotes wine nucleation were studied.

It was demonstrated that it is possible to predict deionization degrees closer to wines effective stability with one measurement only, with previous agitation of 3 minutes/flask, using a portable agitator. It was proved that freezing temperature variations do not significantly affect the results. Also, the volume of water that promotes wine freezing should be between 1.3 L and 2.0L for 12 samples.

It was concluded that the optimization of the CFT decreases the overestimation of the deionization degree value, by the standard CFT, from 5-8% to 2-5%, allowing to obtain stable wines when processed by electro dialysis. This was proved using the freezer test, at -4°C for 6 days, for 3 different types, of wines from the regions mentioned above, processed by electro dialysis and subjected to the degree predicted by the optimized CFT. Therefore, the tartaric stabilization of wines by electro dialysis benefits from this validated test, the CFT, which provides deionization degrees that ensure its stability.

Keywords

Controlled Freeze-Thawing Test; Deionization Degree; Electro dialysis; Freezer Test; Tartaric Instability; Wine

Resumo

Este trabalho teve como objetivo otimizar e validar o teste de congelação-descongelação controlada (CDC) para a previsão do grau de desionização a impor em eletrodialise, para a estabilização tartárica de vinhos.

Na sua otimização foram testados diversos fatores que poderiam influenciar a previsão do grau de desionização, utilizando 5 vinhos das regiões de Setúbal, Bucelas e Douro. Estudou-se o efeito da agitação, da variação da temperatura do congelador e do volume de água que promove a nucleação do vinho.

Demonstrou-se que é possível prever graus de desionização próximos da estabilidade efetiva do vinho com apenas uma medição, realizando agitação prévia por 3 minutos/frasco, com um agitador portátil. Verificou-se que variações na temperatura do congelador não afetam significativamente os resultados e que o volume de água para promover a congelação do vinho deve ser entre 1.3 e 2.0 L para 12 amostras.

Conclui-se que a otimização do CDC diminui a sobrestimação do grau de desionização, em relação ao CDC standard, de 5-8 % para 2-5 %, permitindo obter vinhos estáveis quando aplicado em eletrodialise. Isto foi comprovado realizando o teste de refrigeração, a -4 °C durante 6 dias, para 3 tipos diferentes de vinhos, das regiões referidas anteriormente, processados por eletrodialise e sujeitos ao grau de desionização previsto pelo CDC otimizado. A estabilização tartárica de vinhos por eletrodialise é, portanto, beneficiada com um teste validado, o CDC, que prevê graus de desionização que garantem a sua estabilidade.

Palavras Chave

Eletrodialise; Grau de Desionização; Instabilidade Tartárica; Vinho; Teste de Congelação-Descongelação Controlada; Teste de Refrigeração

Conteúdo

1	Introdução	1
2	Revisão de Literatura	7
2.1	Instabilidade Tartárica	9
2.1.1	Formação de Bitartarato de Potássio	10
2.1.2	Formação de Tartarato de Cálcio	12
2.2	Determinação da Estabilidade Tartárica do Vinho	13
2.2.1	Teste de Mini-Contacto	13
2.2.2	Teste de Refrigeração	14
2.2.3	Teste de Congelação-Descongelamento Controlado (CDC)	14
2.2.4	Temperatura de Saturação	15
2.3	Estabilização Tartárica de Vinho	16
2.3.1	Estabilização a Frio	17
2.3.2	Método de Contacto	17
2.3.3	Eletrodialise	18
2.3.4	Permuta Iónica	20
2.3.5	Inibidores de Precipitação de Tártaro	20
2.3.5.A	Ácido Metatartárico	21
2.3.5.B	Carboximetilcelulose (CMC)	21
2.3.5.C	Manoproteínas	22
2.3.5.D	Poliasspartato	22
3	Materiais e Métodos	23
3.1	Vinhos	25
3.2	Métodos Analíticos	25
3.2.1	Coeficiente de Correção de Temperatura	25
3.2.2	Grau de Desionização	26
3.3	Eletrodialise	26
3.4	Medição da Condutividade e da Temperatura	27

3.5	Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC)	27
3.6	Teste de Refrigeração	29
4	Resultados e Discussão	31
4.1	Otimização do Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC)	33
4.1.1	Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC) Standard	33
4.1.2	Influência de Fatores Externos	34
4.1.2.A	Introdução de Agitação	34
4.1.2.B	Temperatura de Congelação	38
4.1.2.C	Tempo de Agitação	41
4.1.2.D	Volume de Água Congelada	44
4.2	Validação do Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC) Otimizado	45
4.3	Discussão	49
5	Conclusões e Perspetivas de Trabalho Futuro	53
A	Anexos - Capítulo 3	63
A.1	Coeficiente de Correção de Temperatura	65
B	Anexos - Capítulo 4	67
B.1	Otimização do Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC)	69
B.1.1	Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC) Standard	69
B.1.2	Influência de Fatores Externos	69
B.1.2.A	Introdução de Agitação	69
B.1.2.B	Temperatura de Congelação	78
B.1.2.C	Tempo de Agitação	85
B.1.2.D	Volume de Água Congelada	88

Lista de Figuras

2.1	Distribuição de espécies em função do pH [Centinari, 2016].	9
2.2	Diagrama de equilíbrio sólido-líquido para a mistura etanol-água [Flick, 1998].	11
2.3	Determinação da temperatura de saturação.	16
2.4	Esquema de funcionamento da eletrodíálise [Strathmann, 1986].	19
3.1	Equipamento <i>StabilPro</i>	27
3.2	Peças criadas com recurso à impressora 3D: A-Suporte. B-Encaixe.	29
4.1	Grau de desionização dos Brancos 1 e 2 para diversas agitações, em função do tempo.	35
4.2	Grau de desionização dos Tintos 1 e 2 para diversas agitações, em função do tempo.	36
4.3	Grau de desionização do Rosé 1 para diversas agitações, em função do tempo.	37
4.4	Graus de desionização estabilizados para diversos tipos de agitação.	38
4.5	Nomenclatura das gavetas do congelador utilizadas.	39
4.6	Variação das temperatura das gavetas em função do tempo.	40
4.7	Graus de desionização dos vinhos testados em função da gaveta do congelador.	41
4.8	Graus de desionização para os vinhos Branco 1 e 2 e Rosé 1 em função da duração da agitação.	42
4.9	Graus de desionização para os Tintos 1 e 2 em função da duração da agitação.	43
4.10	Graus de desionização dos Brancos 1 e 2 e Rosé 1 em função do volume de água congelada.	44
4.11	Graus de desionização dos Tintos 1 e 2 em função do volume de água congelada.	45
4.12	Observação de depósitos no Branco 2.	46
4.13	Observação de depósitos no Rosé 1.	47
4.14	Observação de depósitos no Tinto 2.	48
4.15	Procedimento experimental final do teste de congelação-descongelação controlada otimizado [Henriques, 2017].	49

Lista de Tabelas

3.1	Propriedades físico-químicas dos vinhos utilizados.	25
4.1	Grau de desionização obtido com o teste de congelação-descongelação controlada. . . .	33
4.2	Temperatura máxima, mínima e média registada para cada gaveta.	39
4.3	Registo do aparecimento de precipitado no teste de refrigeração.	46
4.4	Comparação entre o teste de refrigeração, o CDC standard e o CDC otimizado.	48
A.1	Determinação do coeficiente de correção de temperatura.	65
B.1	Gráus de desionização obtidos com o CDC Standard.	69
B.2	Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 1 - sem agitação.	70
B.3	Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 1 - com espátula.	70
B.4	Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 1 - com agitador.	71
B.5	Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 2 - sem agitação.	71
B.6	Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 2 - com espátula.	72
B.7	Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 2 - com agitador.	72
B.8	Efeito da agitação no grau de desionização para Rosé 1 - sem agitação.	73
B.9	Efeito da agitação no grau de desionização para Rosé 1 - com espátula.	73
B.10	Efeito da agitação no grau de desionização para Rosé 1 - com agitador.	74
B.11	Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 1 - sem agitação.	74
B.12	Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 1 - com espátula.	75
B.13	Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 1 - com agitador.	75
B.14	Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 2 - sem agitação.	76
B.15	Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 2 - com espátula.	76
B.16	Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 2 - com agitador.	77
B.17	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Branco 2 - gaveta A.	78
B.18	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Branco 2 - gaveta B.	79
B.19	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Branco 2 - gaveta C.	79

B.20	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Rosé 1 - gaveta A. . .	80
B.21	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Rosé 1 - gaveta B. . .	80
B.22	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Rosé 1 - gaveta C. . .	81
B.23	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 1 - gaveta A. . .	81
B.24	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 1 - gaveta B. . .	82
B.25	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 1 - gaveta C. . .	82
B.26	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 2 - gaveta A. . .	83
B.27	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 2 - gaveta B. . .	83
B.28	Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 2 - gaveta C. . .	84
B.29	Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Branco 1.	85
B.30	Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Branco 2.	86
B.31	Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Rosé 1.	86
B.32	Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Tinto 1.	87
B.33	Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Tinto 2.	87
B.34	Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Branco 1.	88
B.35	Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Branco 2.	88
B.36	Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Rosé 1.	89
B.37	Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Tinto 1.	89
B.38	Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Tinto 2.	89

Lista de Símbolos e Abreviaturas

Ca²⁺	lão Cálcio
CaT	Tartarato de Cálcio
CDC	Teste de Congelação-Descongelção Controlada
CMC	Carboximetilcelulose
CO₂	Dióxido de Carbono
Cu²⁺	lão Cobre
Fe³⁺	lão Ferro
GDE	Grau de Desionização Efetivo
H⁺	lão Hidrogénio
H₂T	Ácido Tartárico
HT⁻	lão Bitartarato
K⁺	lão Potássio
KHT	Bitartarato de Potássio
Mg²⁺	lão Magnésio
OH⁻	lão Hidróxido
SO₂	Dióxido de Enxofre
T²⁻	lão Tartarato
t	Tempo
T	Temperatura

$T_{\text{máx}}$	Temperatura Máxima
$T_{\text{média}}$	Temperatura Média
$T_{\text{mín}}$	Temperatura Mínima
T_{sat}	Temperatura de Saturação
$\alpha_{\theta,25}$	Coefficiente de Variação de Temperatura
κ	Condutividade
κ_{25}	Condutividade a 25°C
κ_{final}	Condutividade Final
κ_{inicial}	Condutividade Inicial
κ_{θ}	Condutividade à Temperatura θ

1

Introdução

A instabilidade tartárica é uma preocupação da indústria vinícola, que resulta na precipitação de sais de bitartarato de potássio e tartarato de cálcio, obtendo-se um vinho esteticamente menos atrativo. [Swarts, 2017] Atualmente, para acompanhar as exigências dos consumidores, existe uma enorme diversidade de métodos de estabilização tartárica de vinhos, que previnem a precipitação destes sais, estes dividem-se em 3 categorias diferentes [Gerbaud et al., 2010]:

- Processos que provocam a precipitação através de refrigeração, seguida de filtração: estabilização a frio (processo tradicional), método de contacto, entre outros métodos de contacto contínuo;
- Processos de remoção de iões presentes no vinho: permuta iónica e eletrodialise;
- Adição de inibidores de cristalização: ácido metatartárico, carboximetilcelulose (CMC), manoproteínas e poliaspartato.

De entre os métodos existentes, a eletrodialise apresenta-se como um dos mais promissores para a estabilização tartárica, principalmente pela sua versatilidade relativamente ao vinho a tratar. Neste processo, o vinho circula num canal retangular confinado por membranas seletivas aniónicas e catiónicas. Os iões, pela ação externa de um campo elétrico normal às membranas, são forçados a migrar para os elétrodos, passando para uma corrente denominada de concentrado. Por consequência, a corrente de vinho vai ficando mais pobre em iões, corrente de diluato [Strathmann, 1986]. Estes dois compartimentos, diluato e concentrado, alternam entre si, sendo mantidos entre duas placas sob alta pressão de fixação. Os iões que migram mais significativamente são o potássio (K^+) e o bitartarato (HT^-), mas também é registada uma migração considerável de cálcio (Ca^{2+}), iões envolvidos na instabilidade tartárica [Corti and Paladino, 2016]. Para além destes iões, migram ainda Na^+ , Fe^{3+} e Cu^{2+} . A qualidade do vinho é preservada, ou até melhorada através da diminuição do pH e as perdas de vinho são mínimas, assim como o consumo energético. Apesar de todas as vantagens, ainda é um método que não se encontra muito generalizado, devido ao elevado investimento inicial necessário em equipamento e à pouca familiaridade com o método [Corti and Paladino, 2016].

Para aplicar a eletrodialise no tratamento de vinhos é necessário determinar previamente o grau de desionização a impor, o qual corresponde ao grau de instabilidade do vinho. Esta determinação é possível através de vários métodos, como o teste de mini-contacto e o teste de congelação-descongelação controlada (CDC). Atualmente, o teste mais utilizado é o teste de mini-contacto, devido especialmente ao seu reduzido tempo de ensaio. Este teste consiste em induzir a cristalização de bitartarato de potássio (KHT), naturalmente presente no vinho, através da adição de cristais de KHT exógenos, a uma temperatura de $-4^{\circ}C$, com agitação constante, durante 4 horas. A cristalização é monitorizada através da medição da condutividade [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. Para melhorar a robustez do método, uma curva de decaimento exponencial é ajustada à representação da evolução da condutividade medida em função do tempo e a condutividade final é estimada por extrapolação para tempo infinito. Se no

tratamento do vinho, por eletrodialise, for aplicado apenas o grau de desionização previsto por este teste, que apenas tem em conta a precipitação de KHT, resultaria um vinho instável. Isto acontece, uma vez que ocorre a remoção de mais iões para além dos envolvidos na precipitação deste sal. É necessário, portanto, impor sempre uma margem de segurança, visto que o grau previsto se demonstra insuficiente quando se realiza a estabilização do vinho por eletrodialise. Se o grau for subestimado o vinho necessita de ser novamente tratado, o que aumenta o tempo e complexidade do processo e inadvertidamente afeta a confiança neste método de estabilização [Corti and Paladino, 2016]. Para além disso, envolve métodos e equipamentos mais elaborados e a forma como o teste de mini-contacto prevê o grau de desionização não pode ser considerado um modelo absoluto, visto prever em 4 horas o que leva algumas semanas a completar [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. Este requer uma extrapolação para valor infinito através de uma equação empírica que tem, como se sabe, erros de previsão associados, sendo que diferentes parâmetros resulta na obtenção de diferentes graus de desionização [Henriques et al., 2019].

Com o intuito de diminuir os erros associados à previsão a tempo infinito do teste de mini-contacto e de diminuir os elevados custos associados, surgiu um novo teste no mercado que acarreta bastantes benefícios quando comparado com este [Henriques et al., 2019]: o CDC. Este novo teste prevê o grau de desionização tartárica com uma margem adicional de segurança em relação ao teste de mini-contacto [Henriques et al., 2019], ideal para a eletrodialise. O CDC é uma novidade no mercado vinícola e, como tal, é necessário entender se ainda existe espaço para melhorias, nomeadamente averiguar se a sobrestimação associada a este teste se pode aproximar mais rapidamente do equilíbrio termodinâmico. Este teste consiste na congelação, a -20°C durante 24 horas, e descongelação, a 0°C durante 30 minutos, controladas de 12 amostras de 10 mL de vinho. Estas etapas são essenciais para a obtenção de resultados fiáveis e reproduzíveis [Henriques et al., 2019].

Os graus de desionização obtidos com o CDC são sempre superiores aos obtidos pelo teste de mini-contacto. A discrepância entre estes valores pode dever-se apenas ao erro associado à extrapolação para tempo infinito ou ao facto do excesso de sais que precipita a -20°C não ter tempo de se redissolver a 0°C , durante o intervalo de tempo estudado por Henriques et al., 2019. O CDC tem ainda os benefícios de ser um teste rápido, simples, prático e que envolve equipamento de baixo custo.

Para controlo de qualidade, um dos testes mais utilizados atualmente na indústria vinícola portuguesa, para averiguar a estabilidade tartárica do vinho, considerado simples, prático e que não requer equipamento especial, é o teste de refrigeração. Este teste simula as condições extremas a que o vinho é sujeito durante o transporte ou comercialização [Leske et al., 1996] [Soares et al., 2009]. Uma amostra de 100 mL de vinho é sujeita a uma temperatura de -4°C , durante 6 dias, sendo no final avaliada a presença de estruturas cristalinas ou depósitos [Moutounet et al., 1999]. É um teste de carácter qualitativo, que requer um longo período de tempo, incompatível com certas tecnologias de estabilização,

onde resultados rápidos são essenciais por forma a garantir o tratamento em tempo real. Contudo, não é replicável, uma vez que é baseado num fenómeno espontâneo, cristalização não induzida, um processo lento e independente [Leske et al., 1996] [Soares et al., 2009].

Neste trabalho pretende-se demonstrar que o CDC é um bom método para prever o grau de desionização a aplicar em eletrodialise. Estuda-se a influência que alguns fatores externos poderão ter, a fim de o otimizar e tornar mais robusto, e conclui-se que a introdução da agitação neste teste potencia a aproximação ao equilíbrio termodinâmico, diminuindo o grau de desionização previsto anteriormente, considerado sobrestimado. Fatores como o volume de água a adicionar para o passo de congelação e a variação da temperatura no interior do congelador não traduzem limitações, concluindo-se que as melhorias impostas resultam num teste mais fiável. Este teste funciona para diferentes tipos de vinhos de diversas regiões.

Comprovou-se que a aplicação do grau de desionização previsto pelo CDC otimizado à eletrodialise permite obter vinhos estabilizados, aferindo o grau de desionização necessário através do teste de refrigeração. No entanto, o número de amostras produzidas foi reduzido, sendo recomendada a exploração da aplicação do teste em mais gamas de vinhos.

Deste trabalho resulta uma ferramenta, o CDC otimizado, validada e pronta a ser implantada no tratamento do vinho por eletrodialise.

2

Revisão de Literatura

Conteúdo

2.1 Instabilidade Tartárica	9
2.2 Determinação da Estabilidade Tartárica do Vinho	13
2.3 Estabilização Tartárica de Vinho	16

2.1 Instabilidade Tartárica

A uva contém uma quantidade variável de ácidos orgânicos, sendo os primários o tartárico, o málico e, em menor quantidade, o cítrico. Estes ácidos influenciam as propriedades organolométricas do vinho e afetam a sua estabilidade química, física e microbiológica. O ácido tartárico (H_2T) é pouco comum na maioria dos frutos, sendo a uva uma exceção, onde é, de facto, o mais abundante [Swarts, 2017]. A diluição de H_2T ocorre a uma taxa que depende das condições climáticas, resultado do aumento da concentração de açúcares, como a glucose e a frutose, através do fornecimento de água à uva. A concentração de ácido málico diminui significativamente, devido à respiração da videira e, conseqüentemente, o H_2T torna-se o ácido mais abundante, uma vez que não é metabolizado durante a respiração. Durante o amadurecimento da uva a quantidade de ácido tartárico apenas diminui um pouco com a formação de sais [Swarts, 2017]. Por consequência, a sua concentração no vinho é elevada, entre 2-6 g/L [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. O H_2T , de fórmula química $C_4H_6O_6$, é um ácido fraco que se dissocia em solução para bitartarato e tartarato, de acordo com o equilíbrio apresentado na Equação 2.1. Todas as espécies coexistem em equilíbrio [Boulton et al., 1996] e as suas concentrações dependem diretamente do pH [McKinnon et al., 1994], como ilustra a Figura 2.1.

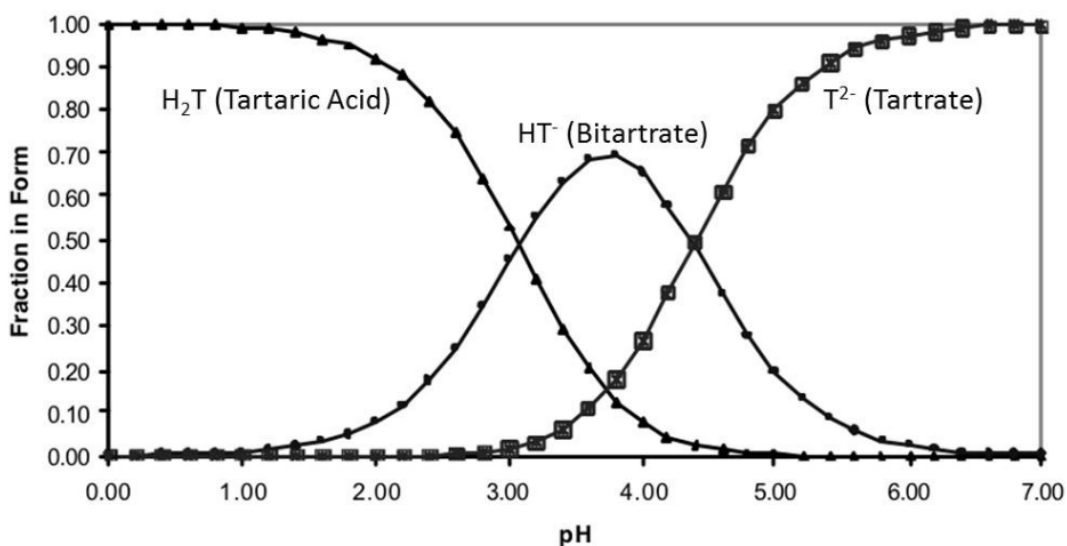
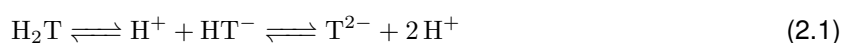


Figura 2.1: Distribuição de espécies em função do pH [Centinari, 2016].

A quantidade de tartarato (T^{2-}) depende da localização, das práticas culturais, do estado de maturação e do tipo de uva. A absorção de sais iônicos, como o Ca^{2+} e o K^+ , pela videira está dependente de fatores como tipo e profundidade do solo e irrigação, pois estes entram na uva através da absorção de

água pela raiz. Assim sendo, o conteúdo em T^{2-} e K^+ varia muito entre regiões [AWRI, b]. A presença de tartarato não apresenta qualquer tipo de risco para os consumidores de vinho. Chega até a ser considerado, por alguns entendedores, que a sua presença é sinal de vinho de qualidade, pois está associado à produção tradicional.

O processo de cristalização ocorre em duas fases: fase de nucleação e crescimento de núcleo a cristal. A nucleação, primeira fase, ocorre em soluções sobressaturadas, em que a concentração do sal se encontra em níveis, considerados, críticos. Abaixo deste nível, no caso de vinhos pouco sobressaturados, a nucleação ocorre lentamente, resultado da termodinâmica envolvida, sendo necessário um longo período de tempo para que a solução mude do estado de sobressaturação para um estado razoavelmente estável. As soluções sobressaturadas possuem uma zona metaestável, que representa o nível de sobressaturação aceite durante a cristalização [Ulrich and Strege, 2002]. Um núcleo, formado a partir de um aglomerado de moléculas ou iões, não se encontra estável até atingir um determinado tamanho, considerado tamanho crítico. Abaixo deste, um núcleo pode crescer ou redissolver. Depois de se formar o núcleo estável, numa solução sobressaturada, este continua a crescer até formar um cristal [Mullin, 2001]. Na segunda fase da cristalização, quando ocorre o crescimento cristalino, os iões da espécie salina migram para os centros ativos, na superfície das sementes cristalinas, e são incorporados na sua estrutura. Pode ocorrer *fouling* durante o processo de cristalização, consequência da ocupação dos centros ativos das superfícies cristalinas, o que resulta no impedimento do crescimento cristalino. Destas substâncias fazem parte alguns pigmentos, polifenóis, proteínas e polissacarídeos. A extensão do *fouling* depende da quantidade e tipo de substâncias coloidais presentes no vinho. Os pré-tratamentos do vinho, como a refinação e a filtração, reduzem o nível de material coloidal e minimizam, consequentemente, o efeito de *fouling* cristalino [Covaci et al., 2015] [Ribéreau-Gayon et al., 2006].

Desde o momento da vindima temos a presença de iões cálcio e potássio, dependendo das condições para a formação dos cristais de KHT e tartarato de cálcio (CaT) estes podem formar-se finos, como poeiras, ou grandes grãos de estrutura cristalina. A estrutura dos grãos irá afetar a sua precipitação, que pode levar apenas algumas horas, no caso das poeiras, ou alguns meses, no caso dos grãos. Atualmente, os produtores modernos têm especial atenção à formação destes cristais, associados à instabilidade tartárica, evitando-a, com o objetivo de produzir um vinho esteticamente mais atrativo e visualmente limpo [Swarts, 2017].

2.1.1 Formação de Bitartarato de Potássio

A formação de KHT no vinho segue uma reação cinética de segunda ordem, entre o ião bitartarato, HT^- , e o ião potássio, K^+ , descrita pela Equação 2.2.



Todos os vinhos diferem na sua capacidade de retenção de sais tartáricos em solução. Quando a concentração de KHT atinge o valor máximo, a determinada pressão e temperatura, a solução está em equilíbrio termodinâmico com a fase sólida, KHT, e diz-se saturada [Mullin, 2001]. A solubilidade do bitartarato de potássio depende do título alcoométrico, pH, temperatura do vinho e dos efeitos interativos entre vários cátions e aniões [Zoecklein et al., 1995].

A interação entre a precipitação de KHT e o pH é evidente quando se observa a Figura 2.1. Para um pH entre cerca de 3.1 e 4.0 localiza-se a zona considerada ótima para a formação de KHT, onde se insere o intervalo de pH normal entre vinhos, cerca de 2.8 a 4.0, uma vez que é onde se encontra a quantidade máxima de iões HT^- [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. Qualquer tratamento de vinho que altere o seu pH pode afetar a precipitação de KHT, pelo que, a estabilização tartárica só deve ser efetuada no final de todas as etapas de produção do vinho.

Numa solução diluída com 10% v/v em álcool, a 20°C, a solubilidade de bitartarato de potássio é de 2.9 g/L. Em água, onde este sal é solúvel, a sua solubilidade é bastante superior apresentando um valor de 5.7 g/L a 20°C [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. A maior solubilidade deste sal em água deve-se à sua natureza aquosa [AWRI, b]. As temperaturas mais baixas, em conjunto com o aumento do título alcoométrico, diminuem a solubilidade do KHT, resultando na sua sobressaturação, e consequente precipitação, como se observa no diagrama de equilíbrio sólido-líquido da mistura água-etanol, constituintes maioritários do vinho, Figura 2.2.

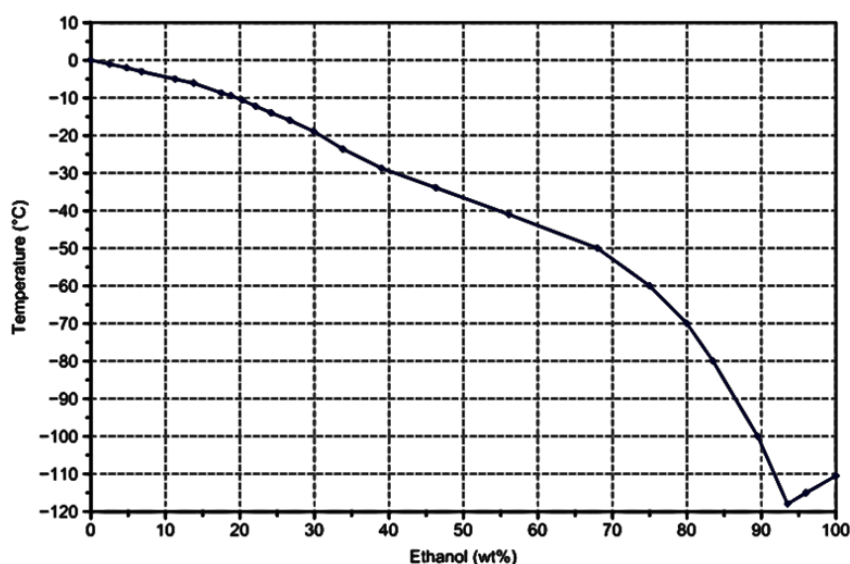


Figura 2.2: Diagrama de equilíbrio sólido-líquido para a mistura etanol-água [Flick, 1998].

Para que ocorra a cristalização é necessário que a solução se encontre sobressaturada, no entanto, encontrar-se apenas na presença de condições de sobressaturação não implica que KHT comece a cristalizar [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. Os parâmetros termodinâmicos sugerem que a precipitação

de KHT é um processo espontâneo e exotérmico. A variação negativa da energia de gibbs e de entalpia e a variação positiva de entropia indicam um processo espontâneo a temperaturas baixas, facilitando a precipitação do KHT [Covaci, 2015].

O bitartarato de potássio pode ainda formar complexos com outros constituintes do vinho, de grande peso molecular, como pigmentos e manoproteínas. Estes compostos são libertados da parede celular da levedura, prevenindo o crescimento celular, sem bloquear a nucleação, afetando a solubilidade de KHT [Moine-Ledoux et al., 1997]. Assim, o vinho é capaz de suportar uma solução sobressaturada em KHT, pois parte do T^{2-} e dos iões de potássio ficam complexados com constituintes do vinho e, como tal, não precipitam.

Não só a composição altera a estabilidade do vinho mas também os pigmentos presentes, que têm um maior fator de inibição no crescimento dos núcleos, atrasando a cristalização do KHT, o que explica a maior estabilidade tartárica do vinho tinto em relação ao vinho branco. O vinho tinto apresenta, naturalmente, uma maior concentração de compostos fenólicos, como taninos condensados, e de pigmentos. A adsorção destes pigmentos na rede cristalina provoca a coloração vermelha escura dos cristais formados [AWRI, b]. Os vinhos brancos possuem uma composição menos complexa, isto resulta, geralmente, na precipitação de KHT mais rapidamente, quando comparados com os vinhos tintos [Ribéreau-Gayon et al., 2006].

2.1.2 Formação de Tartarato de Cálcio

O CaT forma-se quando a capacidade de retenção em T^{2-} é excedida e este reage com o Ca^{2+} , segundo a Equação 2.3, formando moléculas de tartarato de cálcio solúveis, que depois se agregam e precipitam.



Ao contrário do que acontece para o KHT, o tartarato de cálcio é muito menos suscetível à termodinâmica da temperatura do que à do pH, isto deve-se ao mecanismo lento de nucleação espontânea deste sal. Um aumento de pH resulta na diminuição da sua solubilidade, favorecendo a precipitação, como se observa na Figura 2.1 [McKinnon et al., 1994]. A partir de um pH de cerca de 3.0 a concentração de T^{2-} aumenta exponencialmente até um pH de cerca de 6.0, onde estabiliza, favorecendo a precipitação de CaT. A solubilidade do CaT em água é de 0.53 g/L, a 20°C [Ribéreau-Gayon et al., 2006] sendo que, tal como para o KHT, a sua solubilidade diminui com o aumento do teor em álcool [Berg and Keefer, 1958].

Caso o conteúdo em cálcio seja superior a 70-80 mg/L os vinhos estão em risco de se tornarem instáveis [AWRI, a]. Vinhos com instabilidade em tartarato de cálcio podem revelar-se impossíveis de

estabilizar com métodos que envolvam a temperatura [AWRI, a], a eletrodialise é uma boa opção a considerar nestes casos. O tartarato de cálcio pode permanecer por algum tempo no vinho no estado sobressaturado e a sua capacidade de retenção pode aumentar. Isto acontece devido à influência de macromoléculas e ácidos naturais, como o ácido urónico, presentes no vinho [McKinno et al., 1995]. Estes ácidos ligam-se às espécies livres de cálcio e tartarato, presentes em solução, e conseguem abrandar e prevenir a nucleação, diminuindo o estado de sobressaturação.

Os depósitos de CaT apresentam um problema nos vinhos engarrafados, uma vez que estes cristais se formam lentamente e demoram geralmente alguns meses até serem visíveis em solução. Nos vinhos espumantes, as macromoléculas inibidoras do crescimento cristalino deste sal, encontram-se em menor quantidade do que em vinhos de mesa [McKinnon et al., 1996]. Não existem muitos registos da ocorrência da precipitação destes cristais em vinho tinto, uma vez que estes depósitos podem não ser observáveis, devido à cor do vinho, ou por serem confundidos com cristais de KHT. Os cristais de CaT apresentam, normalmente, formas bipiramidais ou rombóides e são incolores ou brancos. Através da utilização de espectroscopia de IV é possível a confirmação de depósitos deste sal [AWRI, a].

2.2 Determinação da Estabilidade Tartárica do Vinho

O potencial de estabilidade tartárica pode ser determinado com recurso a vários testes. Todas as estabilizações e testes associados devem ser efetuados antes do engarrafamento, uma vez que qualquer modificação na composição do vinho, altera as condições e afeta a estabilidade tartárica. É importante para as adegas a existência de testes rápidos, reproduzíveis e simples, que possibilitem a determinação da estabilidade tartárica do vinho em tempo real. A condutividade é utilizada, na maioria dos casos, como indicador do nível de cristalização de KHT, estando diretamente relacionada com a diminuição da concentração em potássio [Escudier et al., 1993].

2.2.1 Teste de Mini-Contacto

Neste teste, a cristalização é induzida pela adição de 4 g/L de cristais de KHT ao vinho, a uma temperatura de -4°C, com agitação constante. A estabilidade tartárica é avaliada pela quantidade de KHT que precipita, através da medição da condutividade, como tal apenas se prevê a instabilidade relacionada com este sal [Santos et al., 2002]. A condutividade específica do vinho é medida e registada em intervalos de tempo contínuos durante 4 horas. A diminuição deste parâmetro está diretamente relacionada com o grau de instabilidade tartárica do vinho.

A seguinte equação é ajustada aos resultados experimentais:

$$\ln \kappa = \frac{a + ct}{1 + bt} \quad (2.4)$$

Na Equação 2.4, κ designa a condutividade específica do vinho em $\mu\text{S}/\text{cm}$, t o tempo em minutos, e a , b e c são parâmetros de ajuste. Esta função de decaimento prevê que a condutividade do vinho atinge um valor estável quando o tempo tende para infinito. Dado que este teste envolve uma extrapolação para tempo infinito e, como tal, não pode ser usado como método absoluto para previsão do grau de desionização. É de conhecimento comum que qualquer extrapolação que utilize uma equação empírica está propensa a erros de previsão. Enquanto as medições são altamente precisas a previsão a tempo infinito é muito incerta [Henriques et al., 2019]. Um vinho pode ser considerado estável quando a percentagem de diminuição de condutividade, referida a tempo infinito, já não diminui mais do que 5% [Moutounet et al., 2010].

Apesar de rápido e simples, este teste é considerado pouco preciso, altamente dependente do tempo de ensaio, pouco reprodutível e bastante influenciado pela variabilidade da granulometria dos cristais adicionados [Ribéreau-Gayon et al., 2006] [Soares et al., 2009]. Para aumentar a reprodutibilidade do teste é necessário controlar o tamanho dos cristais de KHT utilizados.

2.2.2 Teste de Refrigeração

O teste de refrigeração é o método tradicional utilizado para verificar a estabilidade do vinho. Uma amostra de cerca de 100 mL de vinho é armazenada durante 6 dias a -4°C , para posterior análise visual da formação de cristais [Moutounet et al., 1999].

As grandes vantagens deste teste são o facto de ser simples, prático e não requerer equipamento especial. Este é bastante utilizado pela indústria vinícola portuguesa, como teste comum de controlo de qualidade, uma vez que simula as condições a que o vinho pode ser sujeito durante o transporte ou sua comercialização [Soares et al., 2009]. No entanto, é um teste de carácter maioritariamente qualitativo, requer um longo período de tempo e é incompatível com tecnologias de estabilização de baixo contacto, onde resultados rápidos são essenciais para garantir o tratamento em tempo real. Para além disso não é replicável, uma vez que é baseado num fenómeno espontâneo, cristalização não induzida, um processo lento e independente [Leske et al., 1996] [Soares et al., 2009].

2.2.3 Teste de Congelação-Descongelção Controlado (CDC)

O CDC é um teste recente e, tal como o nome indica, é baseado na congelação e descongelção controlada do vinho. O seu procedimento experimental inicia-se ao colocar 12 frascos de vidro vazios no dispositivo *StabilPro*, ilustrado na Figura 3.1. Em seguida, são adicionados 2.0 L de água no reservatório e o dispositivo é colocado num congelador com uma temperatura regulada de -20°C .

Após a congelação da água, o dispositivo *StabilPro* é removido do congelador e colocado numa caixa aberta isoladora, são adicionadas as amostras de vinho nos frascos, primeiro 100 μL de água,

para garantir o início da nucleação do vinho, seguidos de 10 mL de vinho. Num dos frascos não se adicionam os 10 mL de vinho apenas os 100 μ L de água. Remove-se o dispositivo da caixa isoladora e volta a ser colocado no congelador, onde fica por um período de 24 horas.

No final das 24 horas a -20°C , o dispositivo é removido do congelador e volta a ser colocado na caixa isoladora. Neste momento são adicionados 0.5L de água no reservatório do dispositivo e a referência, 10 mL de vinho, no frasco onde apenas se colocaram os 100 μ L de água. As amostras descongelam durante 30 minutos e, findo este tempo, é medida a condutividade das amostras descongeladas e da referência. O controlo do passo de congelação é essencial para obter resultados reprodutíveis [Henriques et al., 2019].

Como a solubilidade do bitartarato de potássio diminui com a diminuição da temperatura, a -20°C a concentração de etanol dentro da amostra é, cerca de, 30%, como se observa pela Figura 2.2. Consequentemente, com o aumento da concentração em etanol, é atingido um alto grau de sobressaturação, sendo expectável que ocorra nucleação espontânea a esta temperatura [Sousa and Lopes, 2001]. Quando o vinho descongela e a temperatura aumenta, para 0°C , o excesso de cristais em solução redissolve, até se atingir um estado de equilíbrio termodinâmico. A cinética de cristalização tem um papel importante no processo, é necessário um tempo de congelação de 24 horas, para obter graus de desionização mais fidedignos [Henriques et al., 2019].

Foi comprovado por Henriques et al., 2019 que os graus de desionização obtidos com o CDC são sempre superiores aos obtidos pelo teste de mini-contacto. Assim, aplicando o CDC obtêm-se previsões do grau de desionização com uma margem adicional de segurança. Este teste é, portanto, de confiança e de baixo custo, permitindo controlar a temperatura de congelação apenas utilizando um congelador normal [Henriques et al., 2019].

2.2.4 Temperatura de Saturação

A temperatura de saturação (T_{sat}) do vinho é definida como a temperatura mais baixa a que o vinho consegue dissolver KHT, assim sendo vinhos mais estáveis apresentam menor temperatura de saturação. Neste teste, a temperatura é utilizada como modo de estimativa da estabilidade de KHT no vinho, com base na solubilidade do sal [Ribéreau-Gayon et al., 2006].

A T_{sat} é determinada medindo-se a condutividade elétrica do vinho durante um aumento de temperatura, numa experiência que ocorre em dois passos: com e sem adição de KHT. Na primeira parte da experiência, o vinho é arrefecido até 0°C , num banho termostatizado, equipado com fontes de calor e de frio. Seguidamente, a temperatura é aumentada até 30°C e a condutividade do vinho é medida continuamente. Na segunda parte do teste, o mesmo vinho é arrefecido até 0°C , sendo, agora, adicionados 4 g/L de cristais de KHT e a temperatura volta a ser aumentada até 30°C . Em ambos os passos, o vinho é agitado continuamente com um agitador magnético e a sua condutividade medida durante o aumento

de temperatura. A T_{sat} do vinho é dada pela interseção das curvas das condutividades dos dois passos, com e sem adição de KHT, em função da temperatura, como representado na Figura 2.3 [Santos et al., 2002].

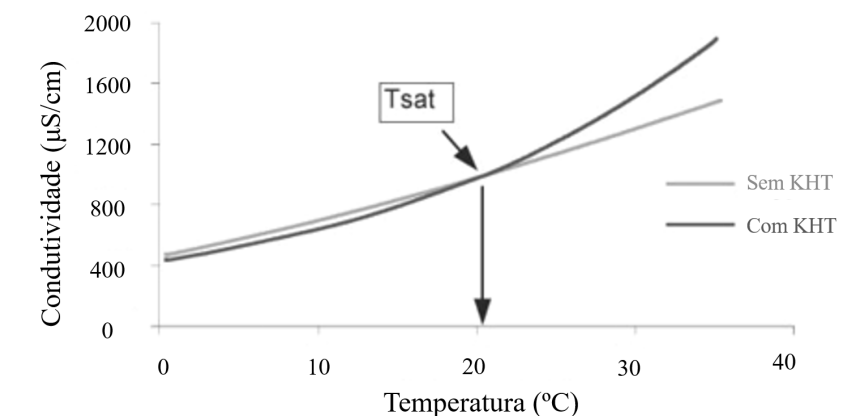


Figura 2.3: Determinação da temperatura de saturação.

Este teste tem a vantagem de ser baseado na solubilidade de KHT no vinho, fenómeno muito mais fiável que a cristalização induzida, menos reprodutível, em que alguns métodos se baseiam. Para além disso, este teste é muito mais rápido [Maujean et al., 1985]. Foi ainda relacionada a T_{sat} com a temperatura de cristalização espontânea do KHT, sendo a temperatura de estabilização de um vinho dada pela Equação:

$$T = T_{\text{sat}} - 15^{\circ}\text{C} \quad (2.5)$$

É possível estimar o grau de desionização necessário para atingir uma T_{sat} de um vinho estável através da expressão [Gonçalves et al., 2003]:

$$T_{\text{sat}} = 20.3 + 0.44 \times \text{Grau de Desionização} \quad (2.6)$$

2.3 Estabilização Tartárica de Vinho

Atualmente, os métodos de estabilização tartárica de vinho, para prevenir a precipitação de KHT após o engarrafamento, dividem-se em 3 categorias [Gerbaud et al., 2010]:

- Processos que provocam a precipitação através de refrigeração, seguida de filtração: estabilização a frio (processo tradicional), método de contacto, entre outros métodos de contacto contínuo;
- Processos de remoção de iões presentes no vinho: permuta iónica e eletrodialise;

- Adição de inibidores de cristalização: ácido metatartárico, carboximetilcelulose (CMC), manoproteínas e poliaspartato.

2.3.1 Estabilização a Frio

No tratamento por estabilização a frio, o vinho é arrefecido até uma temperatura próxima do ponto de congelação, entre 0 e -4°C, e é mantido a essa temperatura durante três dias a três semanas, sendo uma semana o mais comum [Coulter et al., 2015]. O tempo e a temperatura necessários para estabilizar o vinho dependem do tipo de vinho, vinhos que contenham títulos alcoométricos mais elevados necessitam de uma temperatura de armazenamento mais baixa do que os vinhos de mesa secos, com cerca de 11 a 12% de álcool [Berg and Keefer, 1958].

Este é um método tradicional, que acelera a formação e precipitação de bitartarato de potássio, no entanto não tem qualquer tipo de efeito na estabilização do tartarato de cálcio [Swarts, 2017].

Flutuações de temperatura durante a estabilização a frio resultam numa redução significativa da taxa de precipitação de KHT, devido ao seu efeito na velocidade de formação de núcleos [Covaci et al., 2015]. Outros fatores como a concentração de ácidos, catiões, aniões, pH e vários agentes complexantes também afetam a estabilidade tartárica e a precipitação de KHT [Zoecklein et al., 1995]. Para minimizar a influência dos agentes complexantes e das substâncias coloidais na precipitação deste sal, o vinho deve ser refinado e filtrado antes de se arrefecer e armazenar a frio. Previamente, deve ser testada a estabilidade tartárica do vinho para determinar o tempo de armazenamento necessário.

A separação dos depósitos cristalinos de KHT, depois da estabilização a frio, é feita através da filtração a baixa temperatura, impedindo que o KHT se redissolva no vinho [Dharmadhikari, 1994].

Apesar de bastante utilizada, esta técnica, não permite um controlo preciso na concentração final de KHT obtida. Este método de estabilização resulta na diminuição do pH, da acidez total e da concentração de polissacarídeos e polifenóis, que precipitam em simultâneo com os sais de KHT [Gómez-Benítez et al., 2004]. A precipitação destes compostos resulta na diminuição da qualidade do vinho [Vernhet et al., 1999]. Foi comprovado que este método não estabiliza na totalidade alguns vinhos brancos e rosé [Versari et al., 2002]. Para além disso, outras grandes desvantagens associadas a este método incluem: o elevado tempo de processamento, grande dispêndio de energia e elevado custo de capital, em tanques e refrigeração extra [Soares et al., 2009]. Porém, é possível reduzir os gastos com refrigeração utilizando tanques isolados.

2.3.2 Método de Contacto

No método de contacto, a introdução de sementes cristalinas reduz o tempo de indução, período entre atingir a sobressaturação e o aparecimento dos primeiros cristais, diminuindo a amplitude da zona

metaestável [Mullin, 2001]. Os cristais de KHT adicionados terão o papel de iniciador de cristalização, servindo como núcleos cristalinos, o que resulta na aceleração deste passo, eliminando a etapa de indução de núcleos. É assim iniciado o crescimento cristalino o que resulta na diminuição do tempo necessário para a estabilização [Dharmadhikari, 1998]. Depois de formados os cristais crescem e podem ser removidos por filtração, resultando deste processo um vinho tartaricamente estável.

A quantidade ótima de cristais de KHT a adicionar é 4 g/L, com partículas de 40 μm , para se obter um vinho estável [Rhein and Neradt, 1979]. Quantidades inferiores implicam maior período de processamento, enquanto que quantidades superiores não são aconselháveis, pois tornam o processo pouco económico e dificultam a etapa de filtração.

Uma das desvantagens deste processo é a possível ocorrência de *fouling*. Este acontece quando os centros ativos dos cristais de bitartrato de potássio, durante o processo de cristalização, são ocupados por algumas substâncias coloidais, o que suspende o crescimento cristalino. Estão incluídas nestas substâncias alguns pigmentos, polifenóis, proteínas e polissacarídeos [Zoecklein et al., 1995]. A extensão de *fouling* cristalino depende da quantidade e do tipo de substâncias coloidais presentes no vinho. Pode ser melhorado com alguns pré-tratamentos do vinho, como as filtrações, que reduzem a quantidade destas substâncias, sucedendo-se a minimização do *fouling* dos cristais de KHT. Para além disso, este método apenas permite eliminar uma quantidade fixa de sais de KHT, provoca uma perda de cor do vinho, afeta a limpeza dos tanques, dificultando-a, e envolve altos custos [Gómez-Benítez et al., 2003].

As vantagens associadas a este método incluem a obtenção de resultados confiáveis e consistentes, é muito mais rápido quando comparado com o método de estabilização a frio e, com a reutilização dos cristais, pode tornar-se um método mais económico [Dharmadhikari, 1994]. No entanto, a reutilização destes cristais pode causar contaminação microbiana.

2.3.3 Eletrodialise

Na eletrodialise, o vinho circula em múltiplos canais retangulares confinados por membranas seletivas, aniónicas e catiónicas, representadas por MA e MC na Figura 2.4, respetivamente. Pela ação externa de um campo elétrico, normal às membranas, os iões são forçados a migrar para os eletrodos, dando origem a uma corrente de vinho pobre em iões [Strathmann, 1986]. O vinho circula nos compartimentos de solução diluída, que alternam com os compartimentos de concentrado, como se ilustra na Figura 2.4. O equipamento de eletrodialise possui um filtro de segurança que protege as membranas de partículas suspensas, presentes no vinho alimentado aos compartimentos de diluato, prevenindo o bloqueio da circulação. Todos estes elementos são mantidos entre duas placas sob alta pressão de fixação, constituindo assim um empilhamento, ou módulo, de membranas. O padrão unitário constituído por uma membrana catiónica e aniónica e dois espaçadores, é chamado de célula, sendo que

um mesmo módulo, pode conter uma ou mais centenas de células.

A eletrodialise apresenta uma área de superfície de contacto com o vinho, que é ordens de grandeza inferior à correspondente em resinas permutadoras de iões. As membranas de eletrodialise são constituídas por um material polimérico denso, não propenso a fenómenos de adsorção. O oposto acontece na permuta iónica, onde o vinho percola através de meios porosos, com grandes áreas de superfície de contacto. Isto resulta, normalmente, na adsorção de moléculas orgânicas que são de grande importância para as propriedades organolométricas do vinho [Corti and Paladino, 2016].

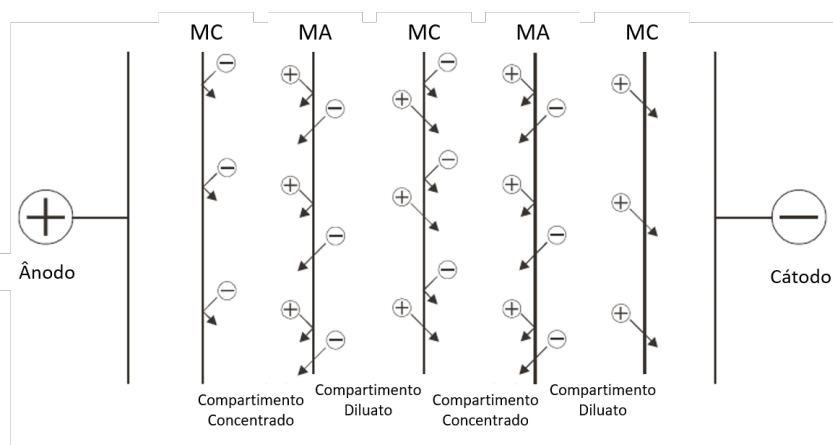


Figura 2.4: Esquema de funcionamento da eletrodialise [Strathmann, 1986].

Na eletrodialise o catião que migra maioritariamente é o K^+ , estando a diminuição da sua concentração no vinho relacionada com a diminuição da condutividade. Os teores em Na^+ , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} e Mg^{2+} também apresentam uma descida na sua concentração, porém esta não é tão significativa como a do K^+ [Corti and Paladino, 2016]. Este processo é dos poucos métodos que permite estabilizar o vinho não só relativamente ao KHT mas também ao CaT, ao diminuir a concentração de Ca^{2+} [Gonçalves et al., 2003]. Relativamente aos aniões, o bitartarato, HT^- , diminui mais intensamente, enquanto que os aniões dos ácidos málico e acético diminuem em menor quantidade [Dos Santos et al., 2000]. O pH do vinho também sofre uma pequena alteração [Gonçalves et al., 2003].

A eletrodialise permite, portanto, estabilizar todo o tipo de vinho [Moutounet et al., 1999]. Como remove não só iões associados à instabilidade tartárica, como HT^- , K^+ e Ca^{2+} , mas também outros iões, mais diluídos no vinho, é necessário que o grau de desionização a impor, para uma completa estabilização do vinho, seja superior ao grau previsto pelos testes de estabilização tartárica. Pois é necessário remover mais iões para além dos previstos por estes. Se o grau de desionização aplicado for inferior ao necessário, é preciso voltar a tratar o vinho, o que aumenta o tempo de operação, a complexidade do processo, os custos e inadvertidamente a confiança no método.

Uma grande vantagem desta técnica, é a flexibilidade da extensão da extração de iões de KHT, permitindo alcançar qualquer grau de desionização variando apenas o tempo de operação, ao contrário

do que acontece com outros métodos de estabilização. Utilizando este método, as características físico-químicas e organolométricas do vinho não são significativamente afetadas [Corti and Paladino, 2016] [Gonçalves et al., 2003].

Apesar de ser um método bastante vantajoso, não se encontra ainda muito generalizado. Isto deve-se ao alto investimento necessário inicialmente em equipamento e, também, à pouca familiaridade com o método [Corti and Paladino, 2016].

2.3.4 Permuta Iónica

O tratamento por permuta iónica consiste em passar o vinho, através de uma coluna contendo uma resina que pode estar na forma catiónica, aniónica, ou uma mistura de ambas. A resina utilizada, é constituída por uma matriz polimérica e grupos funcionais ionizados ligados covalentemente, eletricamente neutralizados por iões móveis de cargas elétricas opostas, que podem ser trocados com iões presentes no vinho [Mira et al., 2006].

A União Europeia só autorizou a utilização da permuta iónica para o tratamento de vinho em 2009, apenas tendo sido autorizada a utilização da resina catiónica no ciclo ácido. Nesta forma, a resina pode estar carregada com Na^+ ou H^+ , ou ainda uma mistura de ambos. Esta resina permite a remoção de diversos catiões, como K^+ e Ca^{2+} (catiões relacionados com a instabilidade tartárica do vinho), ferro e cobre [Benítez et al., 2002].

Mais recentemente, este tratamento tem sido aplicado para diminuir o pH de vinhos brancos e tintos, o que resulta num melhor aspeto visual e estabilidade destes, apesar da diminuição do conteúdo fenólico [Lasanta et al., 2013]. Porém, são negativamente afetados os atributos que dão qualidade ao vinho, no que diz respeito ao sabor [Mira et al., 2006] [Benítez et al., 2002].

Em suma, a utilização da resina catiónica, no tratamento de vinho, é ótima para o ajuste do pH, acidez total e para melhoria da estabilidade tartárica, afetando, porém, as suas propriedades organolométricas.

2.3.5 Inibidores de Precipitação de Tártaro

Outro método muito comum na estabilização tartárica do vinho é a adição de inibidores de precipitação. A taxa de crescimento cristalino é afetada devido à sua influência ser tanto de carácter cinético como termodinâmico. Estes inibidores podem alterar as propriedades da solução, do equilíbrio de sobressaturação, ou as características da camada de adsorção, na interface da solução cristalina [Mullin, 2001]. A morfologia final do cristal pode ser afetada apenas com a adição de pequenas quantidades de aditivo [Mullin, 2001].

Os inibidores de precipitação mais comuns são: o ácido metatartárico, o carboximetilcelulose (CMC),

as manoproteínas e o poliaspartato.

2.3.5.A Ácido Metatartárico

O ácido metatartárico é produzido através da esterificação do ácido tartárico. No entanto, se este sofrer hidrólise, volta a formar ácido tartárico, sendo esta reação altamente sensível à temperatura. Quando o ácido metatartárico é adicionado ao vinho, retarda o crescimento cristalino e impede a precipitação de bitartarato de potássio.

Este inibidor de precipitação é eficaz, mas bastante instável, pois hidrolisa em função do tempo de armazenamento do vinho e da temperatura [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. Se o vinho for mantido a uma temperatura de 0°C, este ácido é capaz de inibir a cristalização de KHT durante vários anos. Porém, se a temperatura for de 35-40°C, a eficiência deste ácido é perdida em poucas horas [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. Como tal, não se trata de um composto estável para a estabilização tartárica de vinho [Dharmadhikari, 1998].

2.3.5.B Carboximetilcelulose (CMC)

O carboximetilcelulose (CMC) é um éter de celulose obtido da derivação deste [Su et al., 2009]. Quando adicionado ao vinho e homogeneizado corretamente forma um revestimento nos percussores da cristalização, os núcleos cristalinos, designado de filme protetor [Ribéreau-Gayon et al., 2006]. Este filme vai desorganizar e deformar a morfologia dos cristais, o que inibe o seu crescimento e precipitação [Swarts, 2017].

Este polímero, solúvel em água, é mais estável que o ácido metatartárico e bastante eficiente na inibição da precipitação de tartaro [Dharmadhikari, 1998]. Foi demonstrado que o efeito inibidor do CMC se mantém mesmo depois de sujeito a 30°C durante 2 meses, ao contrário do que acontece com o ácido metatartárico, que hidrolisa. A dose mais eficaz a utilizar deste inibidor é 15 a 100 ppm [Dharmadhikari, 2002], sendo que usar 20 ppm de CMC tem o mesmo efeito que utilizar 100 ppm de ácido metatartárico [Gerbaud et al., 2010].

Para além disso, o CMC é estável e eficaz em vinhos brancos e rosés. Porém, afeta a estabilidade da cor em vinhos tintos. Uma vez que, neste tipo de vinho, o cristal de KHT absorver preferencialmente polifenóis (tanino) e polissacarídeos, presentes em maior quantidade [Zoecklein, 1988], impedindo as ligações entre o composto CMC e a superfície do cristal. É também menos eficaz no tratamento de vinhos mais instáveis, tanto que é aconselhável submeter o vinho a algum tipo de processo de estabilização tartárica, antes da adição de CMC [Coulter et al., 2015].

2.3.5.C Manoproteínas

As manoproteínas são obtidas da hidrólise de células da parede da levedura. O seu efeito protetor pode ser explicado pelo grande caráter hidrofílico, que as torna bastante estáveis e solúveis, prevenindo a sua precipitação. Porém, o seu efeito inibidor de cristalização é altamente afetado pela diminuição da temperatura [Gerbaud et al., 1997].

Em vinhos tintos, as manoproteínas têm potencial para interagir com os taninos e as substâncias fenólicas, formando coloides [Coulter et al., 2015]. Se a sua adição for feita no início da produção neste tipo de vinho, a estabilidade de cor deste diminui [Rodrigues et al., 2012]. Para vinhos altamente saturados, onde é necessária uma maior concentração de manoproteínas, para se observar o mesmo efeito inibidor, pode ocorrer a sua floculação, o que contraria o efeito esperado [Gerbaud et al., 2010].

2.3.5.D Poliaspartato

Ao contrário de outros inibidores de precipitação utilizados, o poliaspartato é completamente sintético. Este é utilizado para evitar o "fouling" em detergentes, na prevenção de corrosão, como coadjuvante na prevenção do tártaro dentário, como excipiente em certos medicamentos e também como anti-incrustante na indústria petroquímica. Apesar de todas estas aplicações, foi aprovado em 2017 pela União Europeia, a sua utilização no tratamento de vinho. Este composto possui baixa massa molecular e foi demonstrado que é bom inibidor da cristalização de KHT, em vinhos brancos e tintos [Bosso et al., 2015].

O poder inibidor do poliaspartato apresenta um efeito semelhante ao do ácido metatartárico e do CMC. Demonstra uma melhor estabilidade, particularmente em vinhos tintos, com um pequeno aumento da concentração de ácido aspártico, devido à sua degradação ao longo do tempo. Este composto demonstra-se promissor, porém necessita ainda de mais estudos acerca da sua aplicabilidade na estabilização de vinho [Bosso et al., 2015].

3

Materials e Métodos

Conteúdo

3.1 Vinhos	25
3.2 Métodos Analíticos	25
3.3 Eletrodialise	26
3.4 Medição da Condutividade e da Temperatura	27
3.5 Teste de Congelação-Descongelação Controlada (CDC)	27
3.6 Teste de Refrigeração	29

3.1 Vinhos

Os vinhos utilizados foram gentilmente cedidos pela empresa *Wineinova, Lda*, assim como as suas análises. Na Tabela 3.1 apresentam-se as características físico-químicas e regiões de origem para cada um dos vinhos utilizados.

Tabela 3.1: Propriedades físico-químicas dos vinhos utilizados.

	Branco 1	Branco 2	Rosé 1	Tinto 1	Tinto 2
Região de Origem	Bucelas	Setúbal	Bucelas	Bucelas	Douro
Título Alcoométrico (20°C) (% v/v)	12.8	12.5	13.0	13.5	14.4
Acidez Total (g/L H₂T)	5.8	5.5	6.5	4.8	4.2
Acidez Volátil (g/L AcOH)	0.5	0.5	0.3	0.6	0.4
SO₂ Livre (mg/L)	65.0	81.0	78.0	95.0	85.0
Açúcares Totais (Glu+Fru) (g/L)	<0.6	1.2	1.6	<0.6	<0.6
Condutividade (μS/cm)	2393	2553	1514	4054	3171
pH	3.2	3.5	3.4	3.8	3.8
Grau de Desionização Efetivo (%)	*	33.4	28.4	*	22.6

* Não sujeito a eletrodialise.

3.2 Métodos Analíticos

3.2.1 Coeficiente de Correção de Temperatura

Um aumento na temperatura da solução causa uma diminuição da sua viscosidade e, consequentemente, um aumento na mobilidade dos iões em solução. Pode também provocar um aumento no número de iões em solução, devido à dissociação das moléculas. Como a condutividade da solução depende destes fatores, um aumento da temperatura da solução resulta num aumento da sua condutividade [Barron and Ashton, 2013].

Assim, tem-se que o coeficiente de correção de temperatura para 25°C (temperatura de referência), é expresso em valor de percentagem de alteração de condutividade por grau Celsius de variação de temperatura, calculado através da Equação 3.1.

$$\alpha_{\theta,25} = \frac{\kappa_{\theta} - \kappa_{25}}{\kappa_{25} \times (\theta - 25)} \times 100\% \quad (3.1)$$

As variáveis κ_{θ} e κ_{25} representam as condutividades medidas a uma temperatura θ e a 25°C.

Como as medições de condutividade não foram efetuadas a 25°C, $\alpha_{\theta,25}$ permite obter o valor da condutividade a esta temperatura, como demonstra a Equação 3.2, a fim de permitir comparações entre resultados.

$$\kappa_{25} = \frac{\kappa_{\theta}}{1 + (\alpha_{\theta,25}/100) \times (\theta - 25)} \quad (3.2)$$

O coeficiente de correção de temperatura, $\alpha_{\theta,25}$, utilizado é de 2.2 %/°C (Anexo A, Tabela A.1).

3.2.2 Grau de Desionização

O grau de instabilidade tartárica do vinho, também designada de taxa/grau de desionização, é definido pela diminuição relativa da condutividade do vinho, apresentado na Equação 3.3 [Soares et al., 2009].

Para calcular este valor é necessário medir as condutividades inicial e final da amostra, $\kappa_{inicial}$ e κ_{final} , respetivamente. O valor de $\kappa_{inicial}$ consiste na medição da condutividade da amostra quando esta atinge a temperatura a que se realiza o teste: -4°C para o teste de refrigeração e 0°C para o teste de congelação-descongelação controlada (CDC). O valor de κ_{final} é obtido no final de cada teste, 6 dias para o teste de refrigeração e 24 horas para o CDC, às mesmas temperaturas.

$$\text{Grau de Desionização} = \frac{\kappa_{inicial} - \kappa_{final}}{\kappa_{inicial}} \times 100\% \quad (3.3)$$

3.3 Eletrodialise

A máquina de eletrodialise da *Wineinova, Lda* tem uma capacidade de tratamento nominal de 3000 L/h. O módulo de membranas utilizado é atualmente fornecido pela empresa *Suez* (Paris, França) e é constituído por 100 pares de membranas catiónicas (referência *CR67*) e aniónicas (referência *AR204*). A área efetiva total das membranas é de 30 m². A máquina de eletrodialise possui ainda um filtro de proteção de 5 μ .

O vinho foi processado em contínuo com uma densidade de corrente entre 35 e 50 A/m² e uma voltagem entre 0.8 a 1.2 V/par de membranas, dependente do tipo de vinho processado. Todos os

vinhos foram previamente filtrados por filtração tangencial.

3.4 Medição da Condutividade e da Temperatura

O termopar utilizado é da marca *System Teknik* (Nørresundby, Dinamarca), modelo *AB*, com uma resolução de 0.001°C. A sonda de temperatura utilizada é a acoplada ao termopar.

A condutividade foi medida recorrendo a um condutivímetro da marca *Hanna Instruments* (Rhode Island, Estados Unidos da América), modelo *Primo 4*, com uma escala de 0.00 a 10.00 mS/cm. Este é calibrado com uma solução de 5.00 mS/cm e faz a compensação automática da temperatura entre 0 e 60 °C, no entanto todas as compensações foram feitas utilizando a Equação 3.2.

Foi utilizado um logger de temperatura com uma resolução de 0.01°C, da marca *Vaisala* (Vanda, Finlândia), modelo *VL-1416-44V*, para registar as variações de temperatura das gavetas durante 6 horas. As sondas de temperatura utilizadas são as acopladas ao logger.

3.5 Teste de Congelação-Descongelação Controlada (CDC)

Neste teste é utilizado o equipamento *StabilPro*, apresentado na Figura 3.1, gentilmente cedido pela empresa *Wineinova, Lda*.

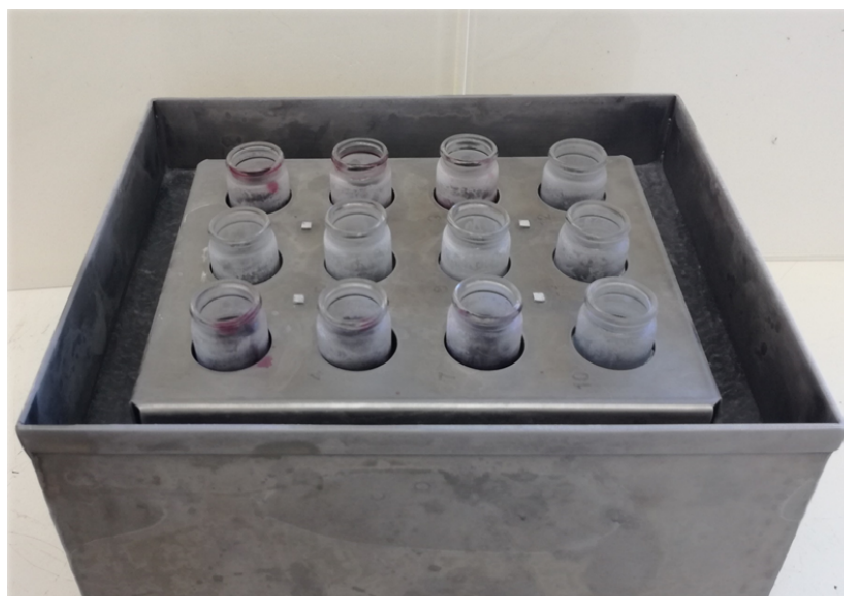


Figura 3.1: Equipamento *StabilPro*.

Inicialmente, adiciona-se um determinado volume de água no reservatório envolvente aos frascos, que necessita de ficar a congelar durante a noite. É de extrema importância que o nível de água

adicionado atinja a base dos frascos, de modo a permitir trocas de calor eficientes.

No dia seguinte, o dispositivo é colocado numa caixa isoladora, para impedir eventuais perdas de energia térmica. Em todos os frascos são adicionados 100 μL de água seguidos de 10 mL de vinho, exceto num, que servirá para colocar o testemunho, onde apenas se colocam os 100 μL de água. O dispositivo volta a ser colocado no congelador, onde permanece por 24 horas. Após este tempo, o dispositivo volta a ser colocado na caixa isoladora e são adicionados 0.5L de água ao reservatório, para descongelar as amostras. Aguarda-se que a descongelação das amostras seja concluída, período que pode levar entre 30 minutos a 1 hora, consoante as condições atmosféricas exteriores, e é então colocado o testemunho, uma amostra de 10 mL de vinho, sem tratamento, no frasco livre. É medida a condutividade do vinho de referência e das restantes amostras. As medições das amostras podem ou não ter agitação prévia, sendo a sua duração variável.

O congelador utilizado é da marca *Liebherr* (Bulle, Suíça), modelo *Medline*, com o set-point de temperatura definido para -20.0°C . Este congelador tem uma resolução de 0.1°C e foram utilizadas as suas várias gavetas.

O agitador portátil utilizado é da marca *KKMOON* (República Popular da China), modelo *Grinder*, com uma velocidade aproximada de 2000 rpm. Para otimizar a agitação foram criadas duas peças de equipamento (ambas em PLA), apresentadas na Figura 3.2, com recurso à impressora 3D da marca *Ultimaker* (Gelderland, Holanda), modelo *2+*. Em primeiro lugar, foi feito o suporte, representado por "A" na Figura 3.2, para permitir o ajuste do agitador ao frasco, de modo a diminuir o fator erro humano e tornar a agitação mais homogénea. Em seguida, foi produzido um encaixe, representado por "B" na Figura 3.2, a fim de evitar contaminações das amostras de vinho.

Na otimização do CDC foi definido um plano de ação em cadeia: à medida que se tiravam conclusões nos estudos efetuados, estas eram aplicadas nos estudos seguintes, permitindo obter no final um CDC otimizado.

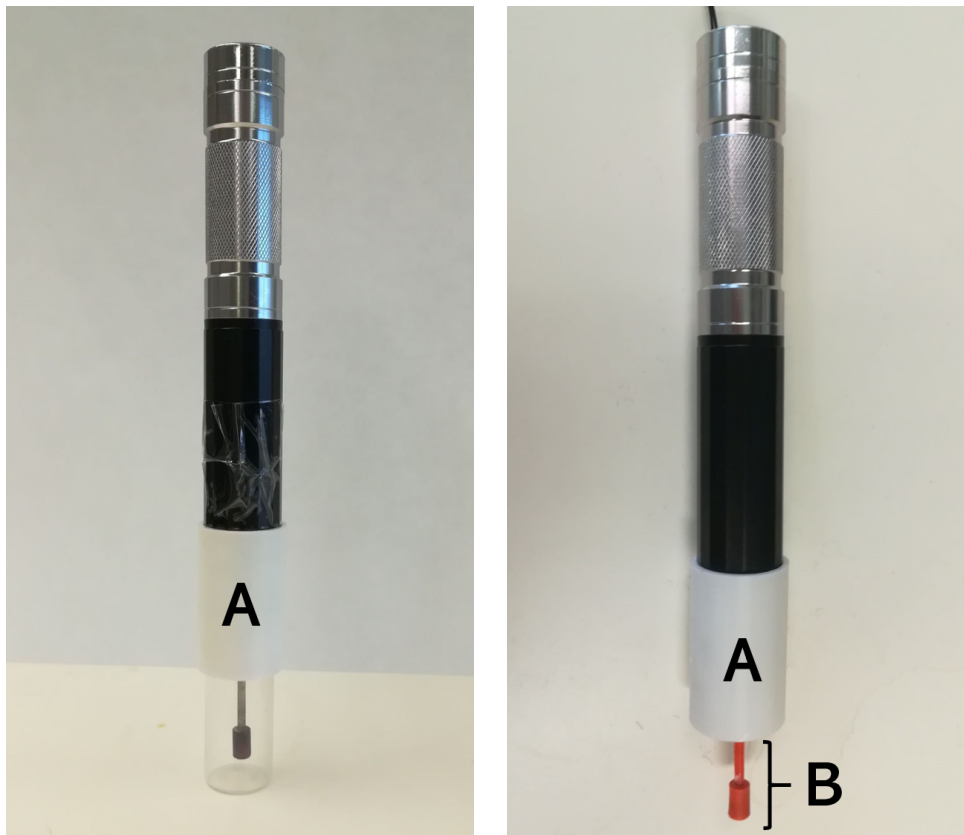


Figura 3.2: Peças criadas com recurso à impressora 3D: A-Suporte. B-Encaixe.

3.6 Teste de Refrigeração

No teste de refrigeração, uma amostra de 100 mL de vinho é arrefecida a -4°C , temperatura próxima do seu ponto de congelação, durante 6 dias.

Este teste foi efetuado realizando uma mistura de vinho tratado com vinho não tratado. Esta mistura permite preparar amostras de vinho com percentagens de desionização entre as correspondentes ao vinho tratado e não tratado, a fim de avaliar visualmente o aparecimento de sais de bitartarato de potássio (KHT). Se as amostras não apresentarem precipitado consideram-se estabilizadas, caso contrário conclui-se que se encontram instáveis.

Foram preparadas amostras com cerca de 1/2, 1/4 e 3/4 do grau de desionização aplicado em eletrodíálise, apresentado na Tabela 3.1 (grau de desionização efetivo (GDE)). O cálculo dos volumes de vinho tratado e não tratado que foram necessários adicionar, para obter as várias percentagens de desionização, foi efetuado com recurso à ferramenta *Solver* do *Excel*. Após efetuadas as misturas com o volume calculado, foi sempre avaliado o valor da condutividade para confirmar que igualava o grau de desionização pretendido. Caso esta exigência não fosse cumprida era feito um ajuste com volume de

vinho tratado ou não tratado, consoante cada caso, até se obter a grau pretendida.

Para manter as amostras a -4°C durante 6 dias, foi utilizado um banho termostaticado de etileno-glicol. O banho termostaticado é da marca *Huber* (Nova Jersey, EUA), modelo *Polystat cc2*, com uma resolução de 0.1°C .

4

Resultados e Discussão

Conteúdo

4.1 Otimização do Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC)	33
4.2 Validação do Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC) Otimizado . .	45
4.3 Discussão	49

4.1 Otimização do Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC)

Com o objetivo de otimizar o teste de congelação-descongelção controlada (CDC), estudaram-se diversos fatores que podem influenciar a precipitação de KHT. Os fatores estudados foram: a introdução de agitação das amostras de vinho e respetiva duração, as condições de congelação e o volume de água para congelação das amostras.

Durante o estudo destas influências, verificou-se que durante as estações mais frias, as amostras de vinho não descongelavam completamente ao fim de meia hora. Por esta razão, foi adicionada meia hora ao tempo de descongelção, totalizando 1 hora.

Para verificar se o grau de desionização varia ao longo do tempo, foram feitas várias medições com um intervalo de 30 minutos entre si, realizando várias agitações.

4.1.1 Teste de Congelação-Descongelção Controlada (CDC) Standard

Foi realizado o teste de congelação-descongelção controlada, sem qualquer alteração do método inicial, descrito no capítulo 2.2.3, a fim de permitir a comparação com os resultados do teste otimizado.

No CDC, sem alterações, utilizou-se um volume de 2.0L de água, para formar gelo e permitir a congelação controlada das amostras, no dispositivo *StabilPro*; foi utilizada a segunda gaveta do congelador, identificada como B na Figura 4.5; a descongelção teve uma duração de 30 minutos e foi realizada apenas uma medição, no fim da descongelção das amostras, sem qualquer tipo de agitação prévia.

Tabela 4.1: Grau de desionização obtido com o teste de congelação-descongelção controlada.

	Branco 1	Branco 2	Rosé 1	Tinto 1	Tinto 2
% Desionização	17.6	16.4	27.2	12.2	11.2

Os resultados apresentados na Tabela 4.1 são considerados os valores de referência para os ensaios posteriores. Comparar os graus de desionização obtidos pelo CDC standard com os resultantes quando se avalia a influência de alguns fatores, permite verificar se estes exercem algum tipo de consequência nos valores obtidos, possibilitando alcançar o método mais otimizado.

4.1.2 Influência de Fatores Externos

4.1.2.A Introdução de Agitação

No estudo da influência da agitação, o teste de congelamento-descongelamento controlado foi realizado utilizando: um volume de 2.0 L de água de congelamento no reservatório do *StabilPro*; foi utilizada a segunda gaveta do congelador, identificada como B na Figura 4.5; a descongelamento teve uma duração de 1 hora e foram realizadas diversas medições, de 30 em 30 minutos. Para a primeira medição não se efetuou qualquer tipo de agitação prévia. Nas seguintes, 3 das 9 amostras mantiveram-se sem agitação e nas restantes realizaram agitações variáveis: 3 com recurso a vareta e 3 com o agitador portátil. Cada agitação teve a duração de 2 minutos por frasco.

Para estudar o efeito da agitação na determinação da estabilidade tartárica das amostras, foi considerado o tempo de duração de ensaio, ou seja, quantas medições seriam necessárias efetuar até chegar à conclusão que a amostra se encontrava estabilizada.

É de extrema importância lembrar que os primeiros pontos dos graus de desionização apresentados, para todos os tipos de agitação, foram obtidos sem agitação. Isto permite verificar as alterações entre as duas primeiras medições efetuadas, que correspondem aos dois primeiros pontos apresentados no gráfico.

Para o Branco 1, Figura 4.1, verifica-se que utilizando o agitador portátil ocorre uma diminuição de cerca de 2% do grau de desionização, entre o primeiro e o segundo ponto, o que demonstra que a agitação potencia a redissolução de bitartrato. Isto permite a aproximação mais rápida ao equilíbrio termodinâmico. Para a agitação com espátula e sem agitação o valor do grau também diminui, porém não tão significativamente como com a agitação mecânica, entre os dois primeiros pontos. Com recurso ao agitador portátil foi possível obter um grau de desionização final, mais baixo do que com os outros tipos de agitação testados.

No caso do Branco 2, Figura 4.1, é bastante evidente que ambas as agitações estudadas promovem a estabilização tartárica, através do declive entre os dois primeiros pontos. Sendo a diferença entre os valores de grau de desionização obtidos, na segunda medição, com espátula e com agitador de apenas 0.4%. Porém, ao observar os resultados verifica-se que o grau de desionização final, obtido para a agitação com espátula acaba por ser inferior ao com agitador. No caso do agitador, não existem dados suficientes que permitam uma comparação, dado que até ao ponto de descida abrupta, para agitação com espátula, os valores obtidos com agitador portátil são inferiores. Seria interessante ter mais resultados com agitador, pelo menos mais um ponto, a fim de verificar se o grau seria igual ou inferior ao valor obtido com espátula.

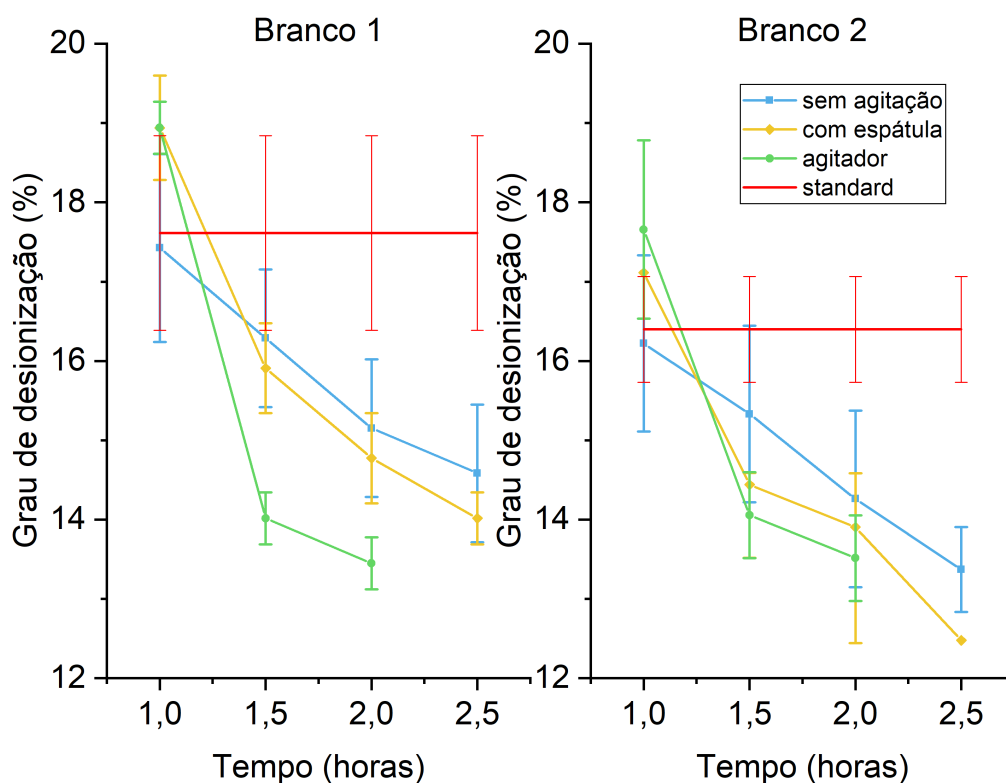


Figura 4.1: Grau de desionização dos Brancos 1 e 2 para diversas agitações, em função do tempo.

Na Figura 4.2 verifica-se que, para ambas as amostras, o valor obtido com recurso ao agitador portátil alcança um grau de desionização final mais baixo em relação às restantes variáveis de agitação. Para o Tinto 1, o valor de grau considerado estável obtido com o agitador portátil, coincide com um dos valores intermédios da agitação com espátula. Todavia, no caso da espátula, ao se proceder a mais uma medição verifica-se que o grau volta a aumentar, não estabilizando no valor obtido anteriormente. Tendo em conta que nenhum dos primeiros pontos apresentados foi sujeito a qualquer tipo de agitação, é de salientar que logo no primeiro ponto utilizando espátula se obteve um valor mais baixo, quando comparado com o valor registado para o primeiro ponto recorrendo ao agitador. Assim, conclui-se que, os resultados associados ao agitador estão de acordo com o esperado, uma vez que o grau diminui até atingir o valor registado com espátula. Para Tinto 2, Figura 4.2, os primeiros pontos de todas as agitações têm um valor aproximadamente igual, o que permite uma melhor comparação da evolução do grau de desionização para cada tipo de agitação estudada. Verifica-se que, com o agitador, o grau de desionização estabiliza num valor mais baixo, associado à metaestabilidade da solução. Para além disso, é também com o agitador que se verifica que existe maior declive entre os dois primeiros pontos, o que se associa a uma aproximação mais rápida ao equilíbrio termodinâmico do vinho.

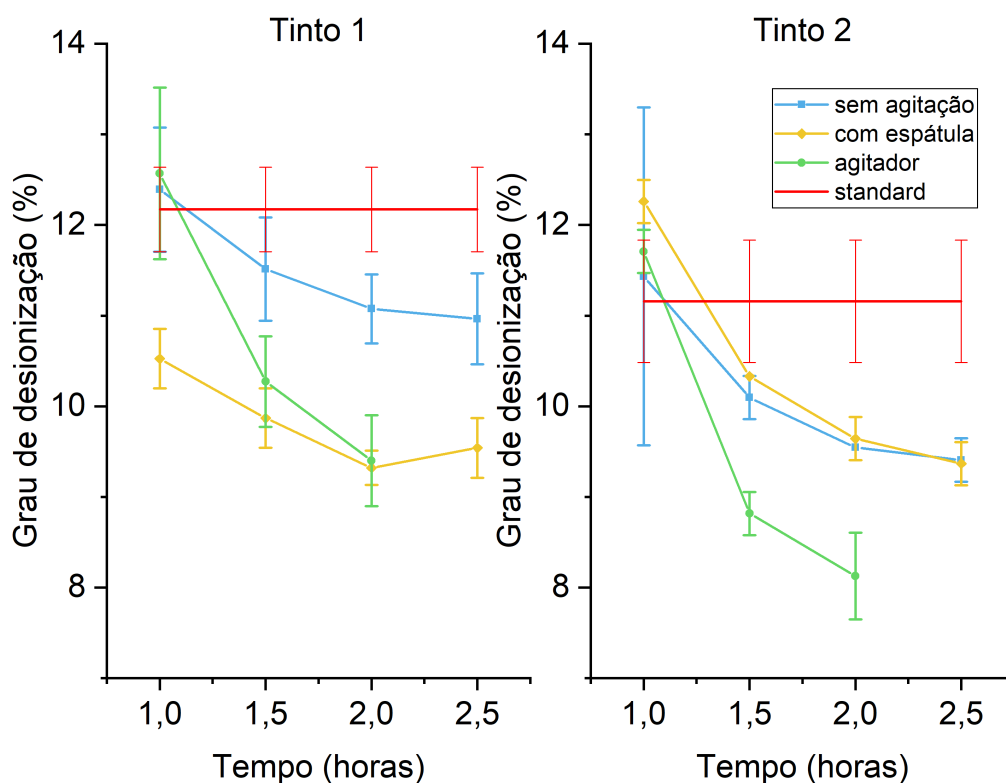


Figura 4.2: Grau de desionização dos Tintos 1 e 2 para diversas agitações, em função do tempo.

Para o Rosé 1, apresentado na Figura 4.3, é observada uma ligeira diferença entre os primeiros pontos no estudo de cada agitação, apesar de todos terem sido obtidos sem agitação. Poderá ser resultado de eventuais erros de medição ou de calibração do condutivímetro. Contudo, para todos os graus de desionização estabilizados, não se verifica uma diferença significativa entre os valores obtidos. Novamente, observa-se que com recurso ao agitador portátil a estabilização é extremamente mais rápida. Isto comprova-se observando o declive da reta entre os dois valores iniciais e pelo facto do grau de desionização considerado estável, apresentar um valor mais baixo com este tipo de agitação. Indicando que ocorreu uma rápida redissolução de bitartarato, que resulta na aproximação ao estado de equilíbrio termodinâmico.

Na Figura 4.4, é possível analisar com maior detalhe, a variação entre os graus de desionização finais atingidos, para cada tipo de agitação estudado. Verifica-se que, quase unanimemente, o grau de desionização final obtido utilizando o agitador portátil é mais baixo, sendo a única exceção o Branco 2, com recurso à espátula. Entre os tipos de agitação estudados, o grau de desionização varia entre 1% e 3%, o que é significativo quando se considera o caso de vinho mais instável, por exemplo o Rosé 1. Comparando com os valores de referência, verifica-se que esses valores, claramente, não eram os mais

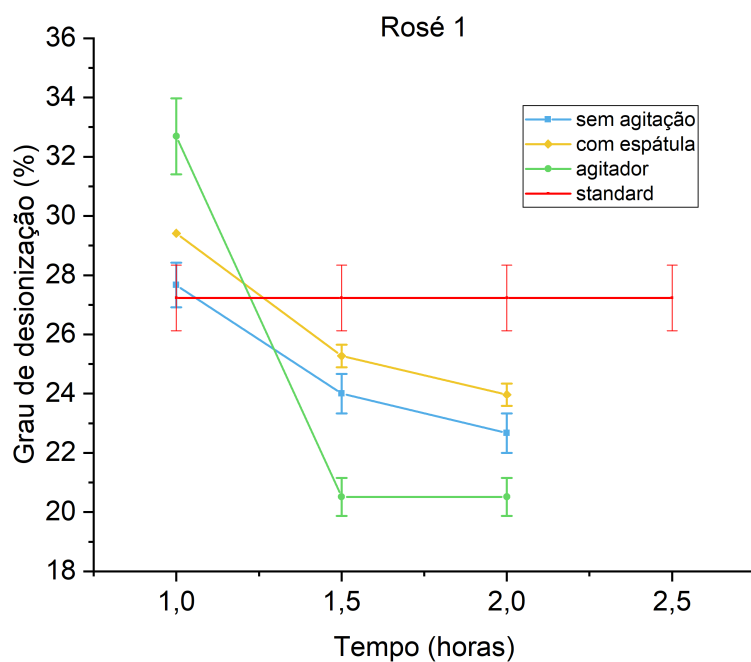


Figura 4.3: Grau de desionização do Rosé 1 para diversas agitações, em função do tempo.

corretos a utilizar na eletrodialise, uma vez que seria imposto um excesso de grau de desionização, que varia entre 3 e 6 %.

Conclui-se que é benéfica a utilização do agitador portátil nas medições. No estudo seguinte foi introduzida, portanto, a agitação de 2 minutos.

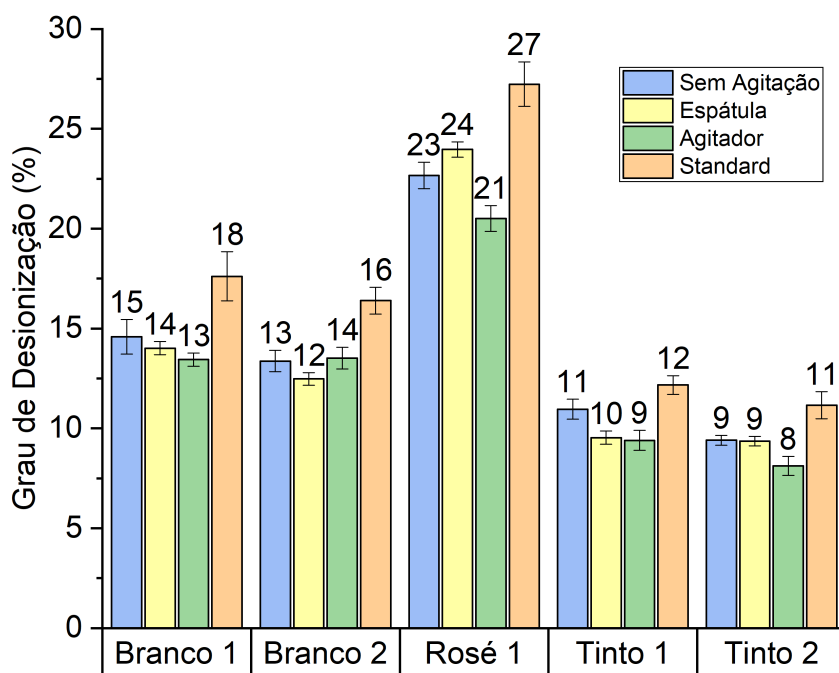


Figura 4.4: Graus de desionização estabilizados para diversos tipos de agitação.

4.1.2.B Temperatura de Congelação

Como no capítulo 4.1.2.A, se conclui que a introdução de agitação é benéfica, o método experimental descrito no início deste foi alterado. Previamente à primeira medição não existe qualquer tipo de agitação, no entanto, nas seguintes utiliza-se o agitador portátil, durante 2 minutos por frasco.

Com o intuito de estudar a influência da variação da temperatura de congelação, foram utilizadas todas as gavetas do congelador, que foram identificadas da seguinte forma: a gaveta superior foi designada de A, a intermédia de B, e a inferior de C, como se demonstra na Figura 4.5.

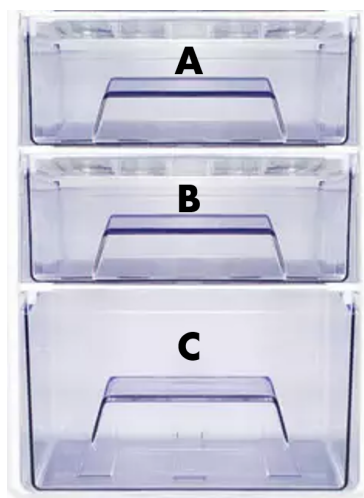


Figura 4.5: Nomenclatura das gavetas do congelador utilizadas.

Uma temperatura de congelação inferior, implica o aumento da concentração de álcool em solução, o que resulta na diminuição da solubilidade de bitartarato de potássio e, conseqüentemente, no aumento da taxa de precipitação deste sal, logo o grau de desionização da amostra aumenta. Pretende-se, portanto, averiguar se as oscilações de temperatura no interior do congelador afetam o grau de desionização obtido.

Este estudo não foi realizado para o Branco 1, devido à pouca quantidade de amostra existente, que foi necessária para os restantes ensaios.

Procedeu-se ao registo da variação das temperaturas das gavetas durante cerca de 6 horas.

Chegou-se à conclusão que na gaveta A, mais próxima da serpentina de refrigeração, a temperatura média é a mínima registada, Tabela 4.2, e verifica-se uma maior oscilação entre temperatura mínima e máxima, Figura 4.6. Na gaveta B a temperatura média é ligeiramente superior à da gaveta A e para a mais afastada da serpentina, gaveta C, a temperatura média é, como expectável, a mais elevada, Tabela 4.2. Para as gavetas B e C não se registam grandes oscilações de temperatura, Figura 4.6.

Tabela 4.2: Temperatura máxima, mínima e média registada para cada gaveta.

Gaveta	T_{máx} ,°C	T_{mín} ,°C	T_{média} ,°C
A	-18.3	-22.2	-20.3
B	-18.3	-20.9	-19.5
C	-14.7	-16.9	-15.7

Verificando a concentração de etanol em função da temperatura média de cada gaveta, Tabela 4.2, consultando o diagrama de equilíbrio sólido-líquido para a mistura etanol-água, apresentado na Figura

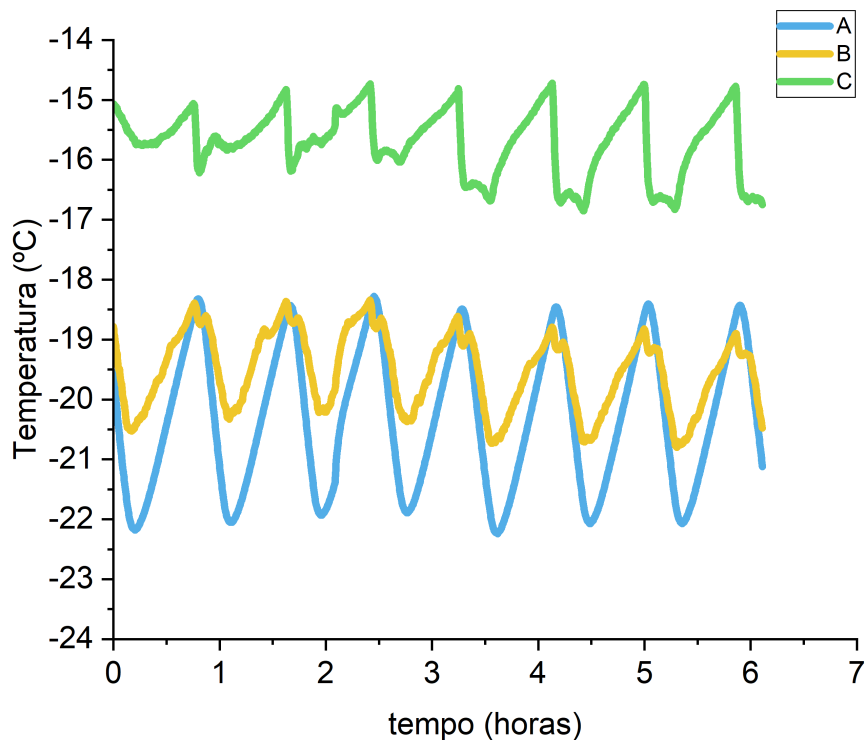


Figura 4.6: Variação das temperatura das gavetas em função do tempo.

2.2, constata-se que, o vinho teria uma concentração em etanol de cerca de 30%, para as gavetas A e B, e de 28% para a gaveta C. Estas diferenças de concentração entre gavetas não se consideram relevantes. Porém temperaturas mais baixas são preferíveis para a cinética de nucleação.

Analisando os graus de desionização estabilizados para cada gaveta, apresentados na Figura 4.7, verifica-se que não existe uma discrepância significativa entre valores. No entanto, para a gaveta A observa-se que, na grande maioria dos casos, o grau de desionização obtido é sempre inferior aos restantes. Isto poderá ser consequência da grande oscilação de temperatura, Figura 4.6, o que afeta o próprio controlo de congelação. O contrário se verifica para a gaveta C, onde se regista uma menor oscilação de temperaturas, o que facilita a nucleação, apesar da temperatura média ser mais elevada, quando comparada com as restantes. Apesar disso, considera-se que o estado ideal, neste caso, ocorrerá em B, uma vez que a temperatura média registada é intermédia, mas muito próxima do valor mínimo registado, e apresenta menor oscilação. Observando globalmente os resultados, não se verificam disparidades consideráveis entre os graus registados para o mesmo tipo de vinho.

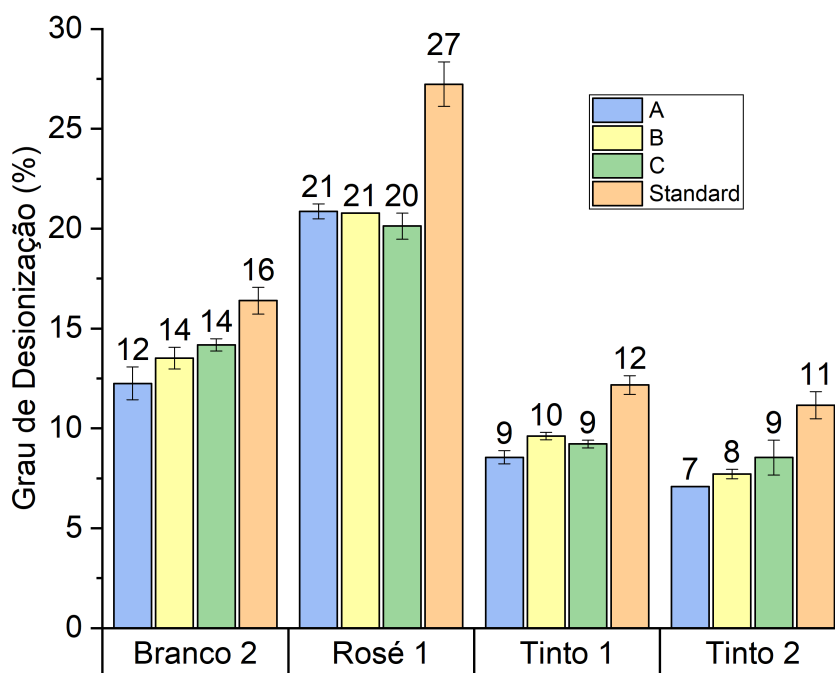


Figura 4.7: Graus de desionização dos vinhos testados em função da gaveta do congelador.

4.1.2.C Tempo de Agitação

Como foi demonstrado no capítulo 4.1.2.B, é aconselhada a utilização da gaveta B do congelador, a etapa de congelação ir-se-á realizar sempre nesta.

Com o intuito de agilizar o teste, ou seja, torná-lo mais prático, experimentou-se diminuir o número de medições necessárias. Assim, foi realizada apenas uma medição, com agitação prévia (utilizando o agitador portátil) que teve uma duração variável entre 1 e 3 minutos, por frasco.

A duração da agitação deverá afetar a redissolução do bitartrato de potássio (KHT). Assim, aumentando a duração desta, é expectável que o grau de desionização obtido diminua, uma vez que a redissolução resulta na estabilização da solução, ao aproximar-se do equilíbrio termodinâmico. O objetivo é obter um método que necessite apenas de uma agitação e de uma medição, diminuindo o tempo experimental necessário para obter resultados fiáveis.

Os valores obtidos neste ensaio são comparados com os valores finais, considerados estabilizados, quando se introduziu a agitação, no capítulo 4.1.2.A.

Para o Branco 1, Branco 2 e Rosé 1 é evidente que quanto maior o tempo de agitação menor o grau de desionização, Figura 4.8, como esperado. As variações entre valores, apesar de não serem

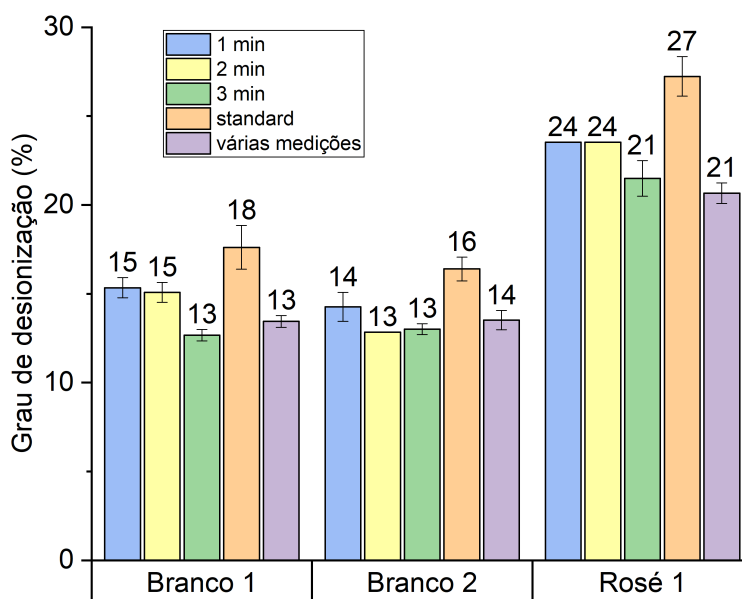


Figura 4.8: Graus de desionização para os vinhos Branco 1 e 2 e Rosé 1 em função da duração da agitação.

muito evidentes no caso de vinhos mais instáveis, como o Rosé 1, podem chegar a 3%, o que é um valor considerável tendo em conta que o grau resultante será aplicado em eletrodialise. Quando se compara com os valores obtidos efetuando múltiplas agitações, conclui-se que, para todos os casos, é semelhante a agitar uma única vez durante 3 minutos.

Para o Tinto 1, Figura 4.9, a relação apresentada é contrária à que se verifica para as restantes amostras de vinho analisadas. Visto que com o aumento do tempo de agitação ocorre um aumento do grau de desionização, o que não seria expectável. Isto dever-se-á a eventuais erros experimentais, como variação de temperatura durante a congelação, agitação deficiente, ou eventual contaminação das amostras para 1 minuto de agitação com água usada na descongelação, o que resultaria numa diminuição do grau de desionização. Observa-se que, neste caso, o resultado para 1 minuto de agitação coincide com o valor estabilizado obtido com várias agitações. Os resultados obtidos para o Tinto 2, Figura 4.9, estão de acordo com os dos restantes vinhos (Branco 1, Branco 2 e Rosé 1), quanto maior o tempo de agitação a que a solução é sujeita mais próxima esta fica do equilíbrio termodinâmico, traduzindo-se num menor grau de desionização, que corresponde ao obtido com múltiplas agitações.

Conclui-se que introduzir a agitação traz, sem dúvida, benefícios que podem ser explorados com a diminuição do tempo de ensaio, tornando o teste de congelação-descongelação controlada mais rápido. Comparando com os valores de referência, observa-se que agitar durante 3 minutos diminui o grau de desionização entre 1% e 6%, permitindo aplicar à eletrodialise um valor mais fiável que o assumido com

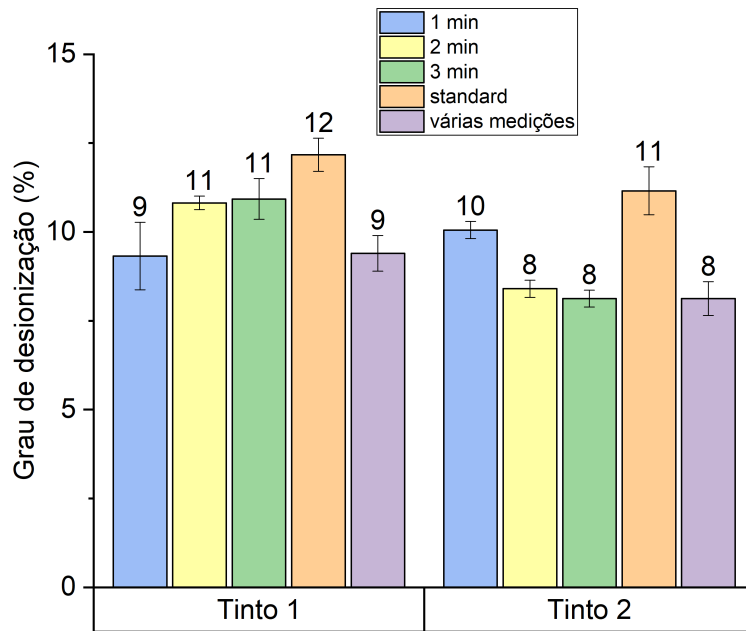


Figura 4.9: Graus de desionização para os Tintos 1 e 2 em função da duração da agitação.

o método inicial, ou standard, do CDC.

4.1.2.D Volume de Água Congelada

Tendo em conta as evidências apresentadas no capítulo 4.1.2.C, realizar-se-á apenas uma medição com agitação prévia de 3 minutos/frasco.

Para estudar a influência do volume de água congelada foram testados vários volumes: 1.3 L, 1.5 L e 2.0 L. O intuito é verificar a possibilidade de reduzir o volume de água utilizado na etapa de congelação, a fim de poupar este recurso tão valioso.

O volume mínimo testado foi de 1.3 L, pois é o necessário para atingir a base dos frascos, de modo a manter a temperatura destes homogénea, a -20°C . Assim, quando são adicionados a água e o vinho a cinética de nucleação dos cristais de KHT é iniciada.

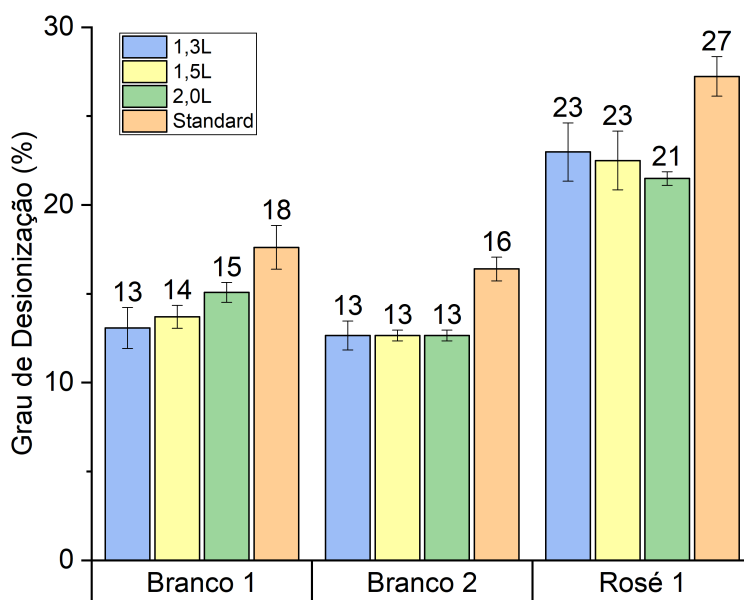


Figura 4.10: Graus de desionização dos Brancos 1 e 2 e Rosé 1 em função do volume de água congelada.

Para o Branco 1, Figura 4.10, e Tinto 1, Figura 4.11, verifica-se uma diminuição do grau de desionização proporcional à diminuição do volume. Porém, para Branco 2 e Tinto 2, aparenta não existir qualquer tipo de influência do volume utilizado no grau de desionização obtido. No caso de Rosé 1, observa-se uma relação inversa entre o volume e o grau de desionização, quando um aumenta o outro diminui e vice-versa.

Comparando os graus de desionização obtidos através da variação do volume com os do método standard, verifica-se que: para um volume de 1.3 L se regista uma diferença entre graus no intervalo de 5 e 2 %; para 1.5 L a diferença registada é entre 4 e 2% e para 2.0 L entre 6 e 1 %. Conclui-se que

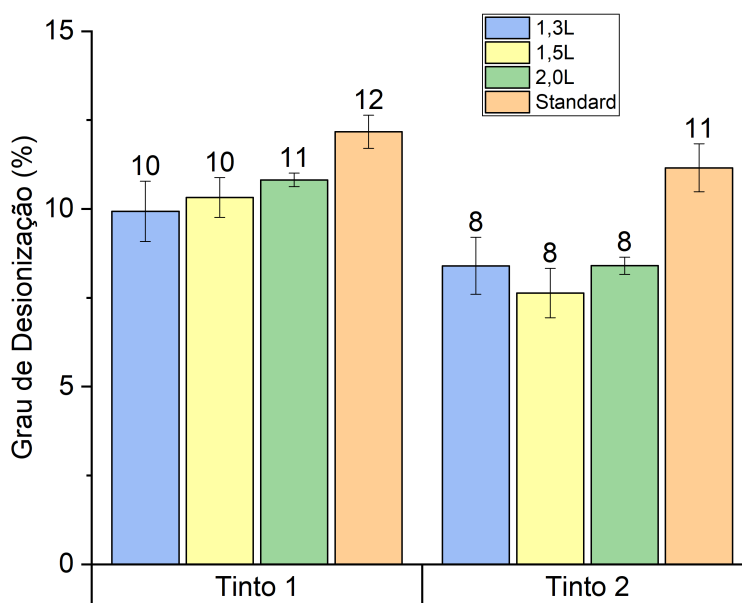


Figura 4.11: Graus de desionização dos Tintos 1 e 2 em função do volume de água congelada.

utilizar um volume de 1.5 L permite obter um grau de desionização menos discrepante em relação ao obtido com o método standard.

Em suma, o volume de água de congelação não afeta significativamente o grau de desionização obtido, sendo que um erro ligeiro no volume de água adicionada não é preocupante. Todavia, é necessário ter em atenção, que a base dos frascos tem de estar sempre em contacto com o gelo formado, a fim de potenciar a cinética de nucleação. Como tal, o volume mínimo de 1.3 L deve ser sempre respeitado.

4.2 Validação do Teste de Congelação-Descongelação Controlada (CDC) Otimizado

Para validar o teste de congelação-descongelação controlada otimizado são comparados, os seus resultados, apresentados no capítulo 4.1.2.D para o volume de 1.5 L, com os do CDC standard e do teste de refrigeração, uma vez que este último é o teste mais utilizado pela indústria vinícola para avaliar a estabilidade do vinho.

Para o teste de refrigeração, ao fim de 6 dias, à temperatura de -4°C , foi possível observar precipitado em alguns dos vinhos testados. Esta observação foi sem dúvida mais difícil nas amostras de vinho tinto, devido ao depósito de cor.

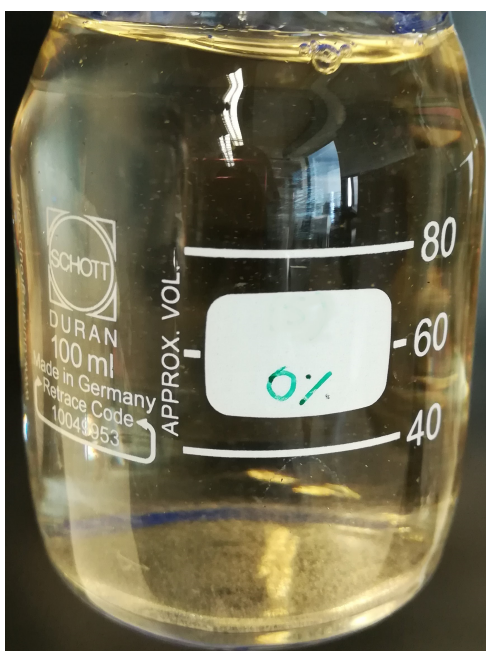
Na Tabela 4.3, é representado o grau de instabilidade das amostras. Apresentam-se todas as amostras testadas, desde o vinho não sujeito a eletrodialise, 0%, até ao grau de desionização aplicado por eletrodialise, grau de desionização efetivo (GDE). Entre estes valores foram preparadas amostras com percentagens intermédias, de cerca de 1/4, 1/2 e 3/4 do valor de GDE. É de notar que nem todos os vinhos testados com CDC foram sujeitos a eletrodialise, como tal aproveitaram-se apenas os resultados de 3 amostras.

Tabela 4.3: Registo do aparecimento de precipitado no teste de refrigeração.

	Grau de Desionização(%)/Grau de Instabilidade									
Branco 2	0	•	8	○	16	○	24	○	33	○
Rosé 1	0	•••	7	••	14	•	21	○	24	○
Tinto 2	0	•	6	○	12	○	18	○	24	○

Grau de Instabilidade:

- Visualização da estrutura cristalina.
- Visualização de precipitado.
- Visualização de depósito.
- Sem qualquer tipo de depósito.



(a) Vinho sem tratamento.



(b) Vinho com 8% desionização.

Figura 4.12: Observação de depósitos no Branco 2.

Através da Figura 4.12, é possível verificar que sem qualquer tipo de tratamento Branco 2 apresenta ligeiros depósitos de sedimentos no fundo do frasco, o que não acontece após ser tratado por eletrodialise com um grau de desionização de 8%.



(a) Vinho sem tratamento.

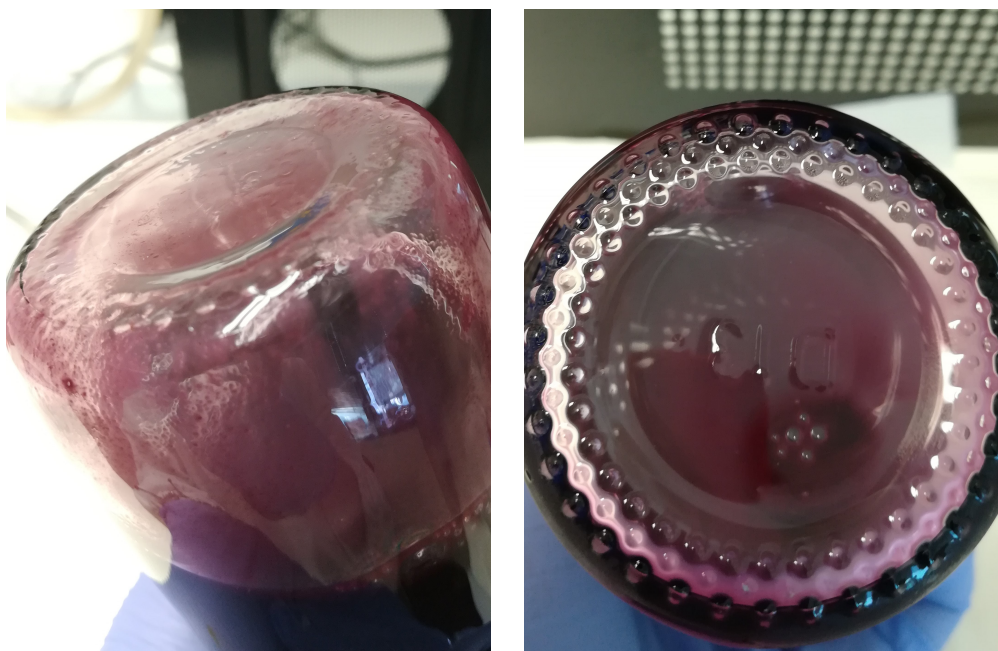
(b) Vinho com 21% desionização.

Figura 4.13: Observação de depósitos no Rosé 1.

Para as amostras do Rosé 1, é evidente a identificação de precipitado no vinho não tratado, Figura 4.13, sendo visível a estrutura cristalina no depósito. Ao ser aplicado o grau de desionização previsto pelo CDC otimizado, 21 %, apresentado na Tabela 4.4, o precipitado desaparece, concluindo-se que o vinho está estável.

Observando a Figura 4.14, para o Tinto 2, verifica-se um ligeiro depósito no fundo do frasco do vinho não tratado. Aqui evidencia-se a dificuldade em observar o precipitado no vinho tinto, pois ocorre depósito de cor. Na amostra com 6% de grau de desionização, é possível verificar que não existe precipitado no fundo do frasco, no entanto é evidente o depósito de cor, o que suporta a afirmação anterior. Este depósito ocorre mesmo quando o vinho se encontra estabilizado, o que dificulta a percepção da existência de precipitado.

Para termos de comparação com os testes CDC standard e otimizado, foi considerado, para o teste de refrigeração, os graus de desionização mais baixos em que não ocorreu qualquer depósito, representado por \circ na Tabela 4.4. É de notar que este teste é meramente qualitativo e que o grau considerado tem um grande erro associado, devido à margem de graus de desionização estudados.



(a) Vinho sem tratamento.

(b) Vinho com 6% desionização.

Figura 4.14: Observação de depósitos no Tinto 2.

Tabela 4.4: Comparação entre o teste de refrigeração, o CDC standard e o CDC otimizado.

% Desionização	Branco 2	Rosé 1	Tinto 2
Teste de Refrigeração	8	21	6
CDC Standard	16	27	11
CDC Otimizado	13	23	8

É possível observar, através da Tabela 4.4, que a otimização do teste de congelação-descongelação controlada permite diminuir a sobrestimação inerente a este. No entanto, este teste continua a obter graus de desionização superiores aos do teste de refrigeração, entre 2 a 5%, indicando que a sobrestimação se mantém. Observa-se que os resultados obtidos com o CDC standard são ainda mais superiores aos obtidos com o teste de refrigeração, entre 5 e 8 %. Seria interessante terem sido testadas mais amostras para comparação.

Os resultados vão de encontro ao esperado, uma vez que o CDC sujeita as amostras a condições extremas de congelação, diminuindo muito mais significativamente a solubilidade dos sais de KHT. Ao diminuir a temperatura até -20°C , a concentração de etanol aumenta muito mais significativamente do que para -4°C , temperatura utilizada no teste de refrigeração, como demonstra a Figura 2.2. Ao descongelar as amostras, a solução aproxima-se do seu estado de equilíbrio termodinâmico, sendo a

redissolução do KHT em solução potenciada pela agitação utilizada no CDC otimizado.

Finalmente, tendo em conta todos os fatores estudados, apresenta-se esquematizado na Figura 4.15 o procedimento do teste de congelação-descongelação controlada já otimizado, baseado no procedimento experimental previamente apresentado por Henriques, 2017.

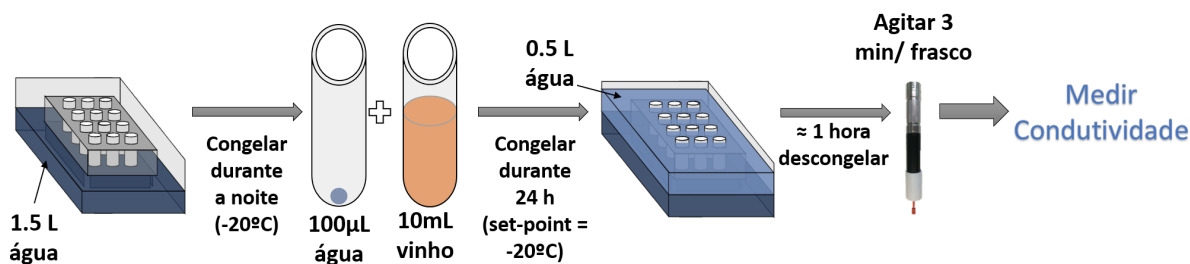


Figura 4.15: Procedimento experimental final do teste de congelação-descongelação controlada otimizado [Henriques, 2017].

4.3 Discussão

O estudo da influência de diversos fatores externos (agitação, temperatura de congelação e volume de gelo) na precipitação de KHT, teve como objetivo otimizar o teste de congelação-descongelação controlada. A introdução destes fatores no método traz melhorias significativas em relação à aplicação de outros testes já existentes no mercado, como o mini-contacto, o mais utilizado para prever o grau de desionização a aplicar em eletrodialise.

Em primeiro lugar, estudou-se a introdução de agitação, e se esta deveria ser mecânica ou manual, utilizando um agitador portátil e uma espátula, respetivamente. Tendo em conta os vários resultados obtidos para cada tipo de agitação, em função do tempo, Figuras 4.1, 4.2 e 4.3, conclui-se de imediato que a introdução da agitação mecânica é benéfica. Comparando as medições sem e com agitação, 1º e 2º ponto, respetivamente, é possível constatar que inserir este passo no método promove a aproximação ao equilíbrio termodinâmico. Todavia, este é favorecido com a agitação mecânica, como se verifica pelo maior declive, entre estes pontos, para esta agitação. Para além disso, ao ser mecânica permite eliminar erro humano, inerente à agitação manual, especialmente depois de lhe ter sido adicionado um suporte, obtido com recurso à impressora 3D. Observando a Figura 4.4, é possível concluir que os valores considerados de referência, obtidos com o CDC standard, são sempre superiores aos resultantes da aplicação da agitação e das várias medições até encontrar o valor estável. Isto está de acordo com o esperado, uma vez que o CDC submete o vinho a condições extremas de congelação, levando a solução ao limite de instabilidade, o que provoca um aumento expressivo da taxa de precipitação de bitartarato de potássio. Realizando um maior número de medições e agitando as amostras promove-se

a redissolução do KHT em solução, aumentando a proximidade à estabilidade da solução. Em suma, considera-se que aplicar agitação estimula a aproximação à situação de equilíbrio termodinâmico da solução, que se traduz num valor de grau de desionização mais fiável.

Depois de introduzida a agitação procedeu-se ao estudo da interferência da temperatura de congelação na instabilidade tartárica. Foram registadas as variações de temperatura, em função do tempo, para as três gavetas do congelador utilizado na etapa de congelação das amostras. Estas leituras permitiram comparar resultados obtidos com diferentes oscilações de temperaturas ao longo do tempo e para diferentes temperaturas médias. A legenda das gavetas encontra-se na Figura 4.5. Para a gaveta A regista-se a menor temperatura média e a maior amplitude de variação de temperaturas. Na gaveta B a amplitude de temperaturas registadas é menor e tem-se, aproximadamente, a mesma temperatura média que a registada para A. Na gaveta C tem-se a maior temperatura média, com uma oscilação de temperaturas semelhante à de B.

Com os valores das temperaturas médias registadas para cada gaveta consultou-se o diagrama de equilíbrio sólido-líquido para a mistura etanol-água, Figura 2.2, e retiraram-se as concentrações de etanol para as respetivas temperaturas. Para as gavetas A e B, as amostras de vinho têm uma concentração em etanol de cerca de 30% e para C de aproximadamente 28%. Verifica-se que a variação de percentagens é pouco significativa, porém uma temperatura mais baixa irá favorecer a cinética de nucleação da amostra. Seria de esperar que o maior grau de desionização, correspondente a uma maior instabilidade da amostra, fosse obtido nas gavetas em que se regista a menor temperatura média, A e B. No entanto, observando a Figura 4.7, constata-se que o mesmo não se verifica. Para a gaveta A, obtêm-se os menores graus de desionização, os quais dever-se-ão à grande oscilação de temperatura sentida pelas amostras. O contrário ocorre para a gaveta B, na qual se regista uma temperatura média próxima da de A com oscilações menores, o que resulta num maior grau de desionização. Por último, a gaveta C apresenta a maior temperatura média, também com poucas variações de temperatura. Os graus de desionização obtidos nesta gaveta nem sempre são concordantes, tanto registam valores superiores ou inferiores relativamente às outras gavetas, dependendo da amostra, sendo a maior variação de cerca de 2%.

Consequentemente, aconselha-se a utilização da gaveta B neste congelador, visto ter uma temperatura média mais baixa e registar menores oscilações de temperatura, o que resulta em maiores graus de desionização. Contudo, com estes resultados verifica-se que a temperatura de congelação não é considerada um fator limitante, sendo aconselhável fixar o set-point do congelador a -20°C , valor utilizado no decorrer dos ensaios experimentais.

Inicialmente, o teste de congelação-descongelação controlada necessitava apenas de 30 minutos para descongelar. No entanto, devido às condições atmosféricas das estações mais frias, verificou-se que este tempo não era suficiente e passou-se a utilizar uma hora. Também se efetuava apenas uma

medição, quando as amostras se encontravam descongeladas, tendo-se começado a efetuar várias, até o valor medido ser considerado estável, isto é, quando se considera que não existem variações significativas entre o último e o penúltimo valor registado.

O próximo passo foi reduzir o tempo de ensaio experimental realizando apenas uma medição, com agitação prévia utilizando o agitador portátil. Aumentando a duração da agitação é expectável que se potencie a redissolução do bitartarato, o que resulta numa diminuição do grau de desionização obtido, todavia não é favorável que esta seja demasiado prolongada. Foram testados tempos de agitação de 1, 2 e 3 minutos. Através das Figuras 4.8 e 4.9 constata-se que, como esperado, com o aumento da duração da agitação para 3 minutos, os grau de desionização diminuem igualando, geralmente, o valor obtido fazendo múltiplas agitações, para atingir o estado mais próximo do equilíbrio termodinâmico.

Outro dos fatores estudado foi o volume de água utilizado na congelação, para garantir o início da nucleação das amostras. Neste estudo teve-se como objetivo reduzir o consumo de água, nesta etapa, sem influenciar o grau de desionização obtido. Porém, não foi possível tirar conclusões significativas, uma vez que os resultados foram bastante variáveis, como se observa nas Figuras 4.10 e 4.11. Tanto se verifica que o grau de desionização não varia em função do volume, como se observa uma diminuição do grau com o aumento do volume, ou ainda um aumento do grau proporcional ao aumento do volume. Variando o volume de água obteve-se, para o mesmo tipo de vinho, uma variação máxima de 2%, no grau de desionização. Desta forma, considera-se que é possível utilizar um volume inferior a 2.0L, desde que o volume utilizado atinja a base dos frascos, ou seja entre 1.3 e 2.0L. É de extrema importância que o gelo formado fique ao nível da base dos frascos para potenciar a nucleação das amostras, no momento em que são adicionadas.

Em suma, conclui-se que fatores como a agitação são de extrema importância para a otimização do CDC, enquanto que a temperatura do congelador e o volume de água congelada, não são fatores limitantes do teste. Deste modo, as alterações sugeridas são: esperar 1 hora para a descongelação das amostras, especialmente em zonas/estações de clima frio; utilizar um set-point de -20°C na etapa de congelação; medir a condutividade apenas uma vez com agitação prévia de duração de 3 minutos; e, finalmente, deve ser utilizado um volume de água para congelar na base do dispositivo *StabilPro* entre 1.3 e 2.0L, sendo o aconselhável 1.5L. Assim, evita-se a oscilação da temperatura de congelação fora dos limites estudados, permite-se uma poupança significativa de água, respeitando o volume mínimo necessário e a sua medição não necessita ser rigorosa.

O teste de refrigeração determina a estabilidade do vinho através da ausência de depósito. Este teste tem, como tal, um carácter meramente qualitativo, e o grau de desionização previsto por este possui um grande erro associado. Porém continua a ser o teste mais utilizado para controlo de qualidade. Para comprovar que a aplicação do grau de desionização previsto pelo CDC otimizado, no tratamento de vinhos por eletrodialise, permite obter vinhos estáveis as amostras de vinhos tratados foram sujeitas

ao teste de refrigeração. Verificou-se que a observação de precipitado no vinho tinto é difícil devido ao depósito de cor, consequência da sua composição química. Ao observar os resultados apresentados na Tabela 4.4, conclui-se que o CDC otimizado prevê por excesso o grau de desionização, como pretendido. Demonstrando-se ideal para garantir que o tratamento por eletrodialise permita obter vinhos estáveis. Uma vez que os testes de instabilidade tartárica atuais, apenas prevêem a remoção de íons associados a este tipo de instabilidade, o que não acontece neste tratamento, onde existe a remoção de outros íons para além dos associados à instabilidade tartárica. É importante que não se aplique um grau de desionização excessivo no tratamento por eletrodialise. Dado que, isto resultaria numa diminuição significativa da concentração de outros íons, o que poderia resultar na alteração das propriedades organolométricas do vinho. Ao comparar os resultados do CDC standard com o otimizado, apresentados na Tabela 4.4, verifica-se que a sobrestimação do grau de desionização diminui do método standard para o otimizado, da gama de 5 a 8% para 2 a 5%..

5

Conclusões e Perspetivas de Trabalho Futuro

Este trabalho teve como objetivo otimizar e demonstrar que o novo teste introduzido no mercado, o teste de congelação-descongelação controlada (CDC), é eficaz na previsão do grau de desionização do vinho, a aplicar em eletrodialise. Para isso, avaliou-se a influência de vários fatores externos na sua previsão, nomeadamente a introdução da agitação prévia à medição da condutividade. Averiguou-se também a eficácia da previsão deste teste para vários tipos de vinhos, de diversas regiões, através da comparação com o teste tradicional, o teste de refrigeração.

A introdução da agitação mecânica com um suporte associado, permite tornar os ensaios mais práticos e diminuir o fator erro humano. Esta demonstrou ser bastante benéfica, uma vez que potencia a redissolução do bitartrato de potássio em solução, aproximando o vinho do seu equilíbrio termodinâmico. A agitação, efetuada exatamente antes da medição, deverá ter uma duração de 3 minutos/frasco, garantindo a obtenção de resultados mais fiáveis apenas com uma medição.

Relativamente à temperatura de congelação do vinho, verificou-se que, apesar de esta não apresentar uma influência significativa nos resultados, as suas oscilações demonstraram afetar a nucleação das amostras. Como tal, é aconselhável que se defina o set-point do congelador para -20°C . Caso se utilize o mesmo congelador a que se recorreu neste trabalho experimental, deve ser utilizada a gaveta B, ilustrada na Figura 4.5.

Em relação ao volume de água de congelação adicionada na base do dispositivo *StabilPro*, para garantir a nucleação das amostras, deve ser utilizado entre 2.0 a 1.3 L. O limite inferior apresentado, corresponde ao volume mínimo necessário para que se atinja a base dos frascos, a fim de promover a cinética de nucleação do vinho. É aconselhada a utilização de um volume de 1.5 L de água, pois este permite uma poupança significativa deste recurso, respeitando o volume mínimo necessário, com alguma margem de segurança.

Através da comparação entre os graus de desionização obtidos pelos vários testes estudados, comprovou-se que o CDC otimizado permite obter resultados mais fiáveis, diminuindo a sobrestimação do grau de desionização inerente ao CDC standard, aproximando-a da estabilidade efetiva. Foi ainda possível concluir que a aplicação do grau de desionização previsto pelo CDC otimizado em eletrodialise permite obter vinhos estáveis, comprovando-se que não é necessário nenhum tratamento adicional. Este teste demonstrou funcionar bem para todos os tipos de vinhos testados, provenientes de diferentes regiões do país.

Em suma, deste trabalho obtém-se, portanto, um teste validado, o CDC otimizado, e pronto a ser utilizado no tratamento de vinhos por eletrodialise. Este teste tem ainda a vantagem adicional de ser muito mais económico que o teste mais usado atualmente, o mini-contacto.

Para trabalho futuro sugere-se a criação de uma matriz de agitadores que permita automatizar e agilizar a etapa de agitação; o estudo da estabilização do tartarato de cálcio, aplicando à eletrodialise o grau de desionização previsto pelo CDC otimizado; e o melhor entendimento da importância de majorar

o grau imposto na eletrodialise. Devido à comparação de um número reduzido de amostras com o teste de refrigeração, é ainda aconselhável que este seja aplicado a uma maior variedade de vinhos para confirmação dos resultados.

Bibliografía

- [AWRI, a] AWRI. Calcium Instability - The Australian Wine Research Institute. <http://www.awri.com.au/industry{ }support/winemaking{ }resources/fining-stabilities/hazes{ }and{ }deposits/calcium{ }instability/>. Data de acceso: 2018-11-12.
- [AWRI, b] AWRI. Potassium Instability - The Australian Wine Research Institute. <http://www.awri.com.au/industry{ }support/winemaking{ }resources/fining-stabilities/hazes{ }and{ }deposits/potassium{ }instability/>. Data de acceso: 2018-11-20.
- [Barron and Ashton, 2013] Barron, J. J. and Ashton, C. (2013). The Effect of Temperature on Conductivity Measurement A REAGECON TECHNICAL PAPER.
- [Benítez et al., 2002] Benítez, J. G., Macías, V. M., Pazo, J. A., and Rodríguez, L. P. (2002). Industrial development of proton exchange for tartrate stabilization of sherry wines. *European Food Research and Technology*, 214(5):418–422.
- [Berg and Keefer, 1958] Berg, H. W. and Keefer, R. M. (1958). Analytical Determination of Tartrate Stability in Wine. I. Potassium Bitartrate. *American Journal of Enology and Viticulture*, 9(4):180–193.
- [Bosso et al., 2015] Bosso, A., Panero, L., Petrozziello, M., Sollazzo, M., Asproudi, A., Motta, S., and Guaita, M. (2015). Use of polyaspartate as inhibitor of tartaric precipitations in wines. *Food Chemistry*, 185:1–6.
- [Boulton et al., 1996] Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F., and Kunkee, R. (1996). *Principles and Practices of Winemaking*. London, 1 edition.
- [Centinari, 2016] Centinari, M. (2016). Cold Stabilization Options for Wineries - Penn State Extension. <https://extension.psu.edu/cold-stabilization-options-for-winerries>. Data de acceso: 2019-03-20.
- [Corti and Paladino, 2016] Corti, S. V. and Paladino, S. C. (2016). Estabilización tartárica en vinos: comparación entre electrodiálisis y tratamiento de frío por contacto. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 48(1):225–238.

- [Coulter et al., 2015] Coulter, A., Holdstock, M., Cowey, G., Simos, C., Smith, P., and Wilkes, E. (2015). Potassium bitartrate crystallisation in wine and its inhibition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1):627–641.
- [Covaci, 2015] Covaci, E. (2015). Thermodynamic Parameter of Potassium Bitartrate During the Young Wines Cold Stabilization. *Chemistry Journal of Moldova. General, Industrial and Ecological Chemistry*, 10(1):42–45.
- [Covaci et al., 2015] Covaci, E., Duca, G., and Sturza, R. (2015). Equilibrium and Kinetic Parameters for the Sedimentation of Tartaric Salts in Young Wines. *Chemistry Journal of Moldova. General, Industrial and Ecological Chemistry*, 10(1):33–41.
- [Dharmadahikari, 2002] Dharmadahikari, M. (2002). Methods of Cold Stabilization. *Vineyard & Vintage View*, 18(2):1–4.
- [Dharmadhikari, 1994] Dharmadhikari, M. (1994). Methods for Tartrate Stabilization of Wine. *Vineyard & Vintage View*, 9(3/4):1–5.
- [Dharmadhikari, 1998] Dharmadhikari, M. (1998). Cold Stabilization by Contact Process. *Vineyard & Vintage View*, 13(6):5–7.
- [Dos Santos et al., 2000] Dos Santos, P. C., Pereira, O. M., Gonçalves, F., Simões, J. T., and De Pinho, M. (2000). Ensaio de Estabilização Tartárica em Vinhos Portugueses: Estudo Comparativo da Eletrodíálise e de um Método Tradicional. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 15(2):95–108.
- [Escudier et al., 1993] Escudier, J., Saint-Pierre, B., Batlle, J., and Moutounet, M. (1993). Automatic Method and Device for Tartaric Stabilisation of Wines.
- [Flick, 1998] Flick, E. W. (1998). *Industrial Solvents Handbook*. Noyes Data Corporation, Westwood, New Jersey, USA, 5 edition.
- [Gerbaud et al., 2010] Gerbaud, V., Gabas, N., Blouin, J., and Crachereau, J. (2010). Study of Wine Tartaric Acid Salt Stabilization by Addition of Carboxymethylcellulose (CMC) : Comparison With the « Protective Colloids » Effect. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 44(4):231–242.
- [Gerbaud et al., 1997] Gerbaud, V., Gabas, N., Blouin, J., Moutounet, M., and Pellerin, P. (1997). Influence of wine polysaccharides and polyphenols on the crystallization of potassium hydrogen tartrate. *Journal internationale des sciences de la vigne et du vin*, 31(2):65–83.
- [Gómez-Benítez et al., 2004] Gómez-Benítez, J., Palacios-Macías, V., Veas-López, R., Valcarcel-Muñoz, M., and Pérez-Rodríguez, L. (2004). Characterization, control and improvement of the cold treatment of Sherry wines. *Food Control*, 15(2):111–116.

- [Gómez-Benítez et al., 2003] Gómez-Benítez, J., Palacios-Macías, V. M., Szekely-Gorostiaga, P., Veas-López, R., and Pérez-Rodríguez, L. (2003). Comparison of electro dialysis and cold treatment on an industrial scale for tartrate stabilization of sherry wines. *Journal of Food Engineering*, 58(4):373–378.
- [Gonçalves et al., 2003] Gonçalves, F., Fernandes, C., Dos Santos, P., and De Pinho, M. N. (2003). Wine tartaric stabilization by electro dialysis and its assessment by the saturation temperature. *Journal of Food Engineering*, 59(2-3):229–235.
- [Henriques, 2017] Henriques, P. (2017). Estabilização Tartárica de Vinhos por Eletrodialise. Master's thesis, Universidade de Lisboa, Instituto Superior Técnico.
- [Henriques et al., 2019] Henriques, P., Alves, A. M. B., Rodrigues, M., and Geraldes, V. (2019). Controlled freeze-thawing test to determine the degree of deionization required for tartaric stabilization of wines by electro dialysis. *Food Chemistry*, 278:84–91.
- [Lasanta et al., 2013] Lasanta, C., Caro, I., and Pérez, L. (2013). The influence of cation exchange treatment on the final characteristics of red wines. *Food Chemistry*, 138(2-3):1072–1078.
- [Leske et al., 1996] Leske, P. A., Bruer, N. G. C., and Coulter, A. D. (1996). Proceedings of the ninth Australian wine industry technical conference. In *Potassium tartrate - how stable is stable?*, pages 39–45.
- [Maujean et al., 1985] Maujean, A., Sausy, L., and Vallee, D. (1985). Determination of potassium bitartrate supersaturation of a wine. Quantification of protective colloids effects. *Revue Française d'Oenologie-cahier scientifique*, 100(4):39–49.
- [Mckinno et al., 1995] Mckinno, A. J., Scollary, G. R., Solomon, D. H., and Williams, P. J. (1995). The Influence of Wine Components on the Spontaneous Precipitation of Calcium L(+)-tartrate in a Model Wine Solution. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(4):509–517.
- [McKinnon et al., 1994] McKinnon, A. J., Scollary, G. R., Solomon, D. H., and Williams, P. J. (1994). The mechanism of precipitation of calcium L(+)-tartrate in a model wine solution. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 82(3):225–235.
- [McKinnon et al., 1996] McKinnon, A. J., Williams, P. J., and Scollary, G. R. (1996). Influence of Uronic Acids on the Spontaneous Precipitation of Calcium L(+)-Tartrate in a Model Wine Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(6):1382–1386.
- [Mira et al., 2006] Mira, H., Leite, P., Ricardo-da Silva, J. M., and Curvelo-Garcia, A. S. (2006). Use of ion exchange resins for tartrate wine stabilization. *Journal international des sciences de la vigne et du vin*, 40(4):223–246.

- [Moine-Ledoux et al., 1997] Moine-Ledoux, V., Perrin, A., Paladin, I., and Dubourdieu, D. (1997). Premiers résultats de stabilisation tartrique des vins par addition de mannoprotéines purifiées (Mannostab™). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 31(1):23–31.
- [Moutounet et al., 1999] Moutounet, M., Battle, J. L., Saint-Pierre, B., and Escudier, J. L. (1999). Stabilisation tartrique. Détermination du degré d'instabilité des vins. Mesure de l'efficacité des inhibiteurs de cristallisation.
- [Moutounet et al., 2010] Moutounet, M., Bouisson, D., and Escudier, J. L. (2010). Détermination du degré d'instabilité tartrique (DIT), principes et applications. *Revue française d'oenologie*, 242:24–28.
- [Mullin, 2001] Mullin, J. (2001). Solutions and solubility. In *Crystallization*, pages 86–134.
- [Rhein and Neradt, 1979] Rhein, O. and Neradt, F. (1979). Tartrate Stabilization by the Contact Process. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30(4):265–271.
- [Ribéreau-Gayon et al., 2006] Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., and Lonvaud, A. (2006). *Handbook of Enology Volume 2 The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. Bordeaux, 2nd edition.
- [Rodrigues et al., 2012] Rodrigues, A., Ricardo-Da-Silva, J. M., Lucas, C., and Laureano, O. (2012). Effect of commercial mannoproteins on wine colour and tannins stability. *Food Chemistry*, 131(3):907–914.
- [Santos et al., 2002] Santos, P., Gonçalves, F., and De Pinho, M. N. (2002). Optimisation of the method for determination of the temperature of saturation in wines. *Analytica Chimica Acta*, 458(1):257–261.
- [Soares et al., 2009] Soares, P., Geraldes, V., Fernandes, C., Santos, P., and Pinho, M. (2009). Wine Tartaric Stabilization by Electrodialysis: Prediction of Required Deionization Degree. *American Society for Enology and Viticulture*, 60(2):183–188.
- [Sousa and Lopes, 2001] Sousa, P. and Lopes, A. M. C. (2001). Solubilities of Potassium Hydrogen Tartrate and Potassium Chloride in Water + Ethanol Mixtures. *J. Chem. Eng. Data*, 46(6):1362–1364.
- [Strathmann, 1986] Strathmann, H. (1986). Electrodialysis. In *Synthetic Membranes: Science, Engineering and Applications*, pages 197–223. Springer Netherlands, Dordrecht.
- [Su et al., 2009] Su, J., Huang, Z., Yuan, X., Wang, X., and Li, M. (2009). Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *Carbohydrate Polymers*, 79(1):145–153.
- [Swarts, 2017] Swarts, A. (2017). *A Look at Tartrate Stabilisation Of Wine In The South African Wine Industry*. PhD thesis, The Cape Wine Academy.

- [Ulrich and Strege, 2002] Ulrich, J. and Strege, C. (2002). Some aspects of the importance of metastable zone width and nucleation in industrial crystallizers. Technical report.
- [Vernhet et al., 1999] Vernhet, A., Dupre, K., Boulange-Petermann, L., Cheynier, V., Pellerin, P., and Moutounet, M. (1999). Composition of Tartrate Precipitates Deposited on Stainless Steel Tanks During the Cold Stabilization of Wines. Part II. Red Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4):398–403.
- [Versari et al., 2002] Versari, A., Barbanti, D., Parpinello, G., and Galassi, S. (2002). Effect of refrigeration on the potassium bitartrate stability and composition of Italian wines. *Italian Journal of Food Science*, 14(1):45–52.
- [Zoecklein, 1988] Zoecklein, B. (1988). A Review Of Potassium Bitartrate Stabilization Of Wines. Technical report, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- [Zoecklein et al., 1995] Zoecklein, B. W., Fugelsang, K., Gump, B., and Nury, F. (1995). *Wine analysis and production*. New York.



Anexos - Capítulo 3

A.1 Coeficiente de Correção de Temperatura

Tabela A.1: Determinação do coeficiente de correção de temperatura.

	θ .°C	κ_{θ} .mS/cm	$\alpha_{\theta,25}$. %/°C
Branco 4	25.0	2.0	2.2
	0.0	0.9	
Rosé 1	25.0	1.3	2.1
	0.0	0.6	
Tinto 3	25.0	3.5	2.2
	0.0	1.6	
Tinto 4	25.0	2.9	2.2
	0.0	1.2	
Média $\alpha_{\theta,25}$.%/°C			2.2

B

Anexos - Capítulo 4

B.1 Otimização do Teste de Congelação-Descongelação Controlada (CDC)

B.1.1 Teste de Congelação-Descongelação Controlada (CDC) Standard

Tabela B.1: Graus de desionização obtidos com o CDC Standard.

	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)	Média % Desionização
Branco 1	Testemunho	0.5	1956		17.6
	Amostra 1	0.4	1644	15.9	
	Amostra 2	0.4	1589	18.8	
	Amostra 3	0.4	1600	18.2	
Branco 2	Testemunho	0.6	2078		16.4
	Amostra 1	0.3	1722	17.1	
	Amostra 2	0.3	1756	15.5	
	Amostra 3	0.3	1733	16.6	
Rosé 1	Testemunho	0.4	1700		27.2
	Amostra 1	0.1	1244	26.8	
	Amostra 2	0.2	1211	28.8	
	Amostra 3	0.1	1256	26.1	
Tinto 1	Testemunho	0.4	3378		12.2
	Amostra 1	0.3	2978	11.8	
	Amostra 2	0.3	2978	11.8	
	Amostra 3	0.2	2944	12.8	
Tinto 2	Testemunho	0.4	2689		11.2
	Amostra 1	0.3	2411	10.3	
	Amostra 2	0.2	2367	12.0	
	Amostra 3	0.4	2389	11.2	

B.1.2 Influência de Fatores Externos

B.1.2.A Introdução de Agitação

Tabela B.2: Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 1 - sem agitação.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.5	1956	
	Amostra 1	0.4	1622	17.0
	Amostra 2	0.4	1633	16.5
	Amostra 3	0.4	1589	18.8
	Média % Desionização			17.4
1.5	Amostra 1	0.4	1656	15.3
	Amostra 2	0.4	1622	17.0
	Amostra 3	0.4	1633	16.5
	Média % Desionização			16.3
2.0	Amostra 1	0.4	1678	14.2
	Amostra 2	0.5	1644	15.9
	Amostra 3	0.5	1656	15.3
	Média % Desionização			15.2
2.5	Amostra 1	0.5	1689	13.6
	Amostra 2	0.5	1656	15.3
	Amostra 3	0.5	1667	14.8
	Média % Desionização			14.6

Tabela B.3: Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 1 - com espátula.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.5	1956	
	Amostra 1	0.2	1578	19.3
	Amostra 2	0.3	1600	18.2
	Amostra 3	0.4	1578	19.3
	Média % Desionização			18.9
1.5	Amostra 1	0.4	1644	15.9
	Amostra 2	0.4	1656	15.3
	Amostra 3	0.5	1633	16.5
	Média % Desionização			15.9
2.0	Amostra 1	0.5	1677	14.8
	Amostra 2	0.4	1678	14.2
	Amostra 3	0.6	1656	15.3
	Média % Desionização			14.8
2.5	Amostra 1	0.5	1678	14.2
	Amostra 2	0.5	1689	13.6
	Amostra 3	0.6	1678	14.2
	Média % Desionização			14.0

Tabela B.4: Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 1 - com agitador.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.5	1956	
	Amostra 1	0.3	1589	18.8
	Amostra 2	0.2	1578	19.3
	Amostra 3	0.2	1589	18.8
	Média % Desionização			18.9
1.5	Amostra 1	0.6	1689	13.6
	Amostra 2	0.4	1678	14.2
	Amostra 3	0.5	1678	14.2
	Média % Desionização			14.0
2.0	Amostra 1	0.8	1700	13.1
	Amostra 2	0.6	1689	13.6
	Amostra 3	0.5	1689	13.6
	Média % Desionização			13.4

Tabela B.5: Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 2 - sem agitação.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.6	2078	
	Amostra 1	0.3	1722	17.1
	Amostra 2	0.3	1733	16.6
	Amostra 3	0.3	1767	15.0
	Média % Desionização			16.2
1.5	Amostra 1	0.4	1778	14.4
	Amostra 2	0.4	1733	16.6
	Amostra 3	0.5	1767	15.0
	Média % Desionização			15.3
2.0	Amostra 1	0.4	1789	13.9
	Amostra 2	0.4	1756	15.5
	Amostra 3	0.4	1800	13.4
	Média % Desionização			14.3
2.5	Amostra 1	0.5	2044	12.8
	Amostra 2	0.5	1789	13.9
	Amostra 3	0.5	1800	13.4
	Média % Desionização			13.4

Tabela B.6: Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 2 - com espátula.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.6	2078	
	Amostra 1	0.3	1722	17.1
	Amostra 2	0.3	1722	17.1
	Amostra 3	0.4	1722	17.1
	Média % Desionização			17.1
1.5	Amostra 1	0.4	1767	15.0
	Amostra 2	0.4	1778	14.4
	Amostra 3	0.6	1789	13.9
	Média % Desionização			14.4
2.0	Amostra 1	0.5	1767	15.0
	Amostra 2	0.5	1789	13.9
	Amostra 3	0.6	1811	12.8
	Média % Desionização			13.9
2.5	Amostra 1	0.6	1811	12.8
	Amostra 2	0.5	1822	12.3
	Amostra 3	0.6	1822	12.3
	Média % Desionização			12.5

Tabela B.7: Efeito da agitação no grau de desionização para Branco 2 - com agitador.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.5	2056	
	Amostra 1	0.4	1711	16.8
	Amostra 2	0.2	1677	18.9
	Amostra 3	0.4	1700	17.3
	Média % Desionização			17.7
1.5	Amostra 1	0.4	1767	14.1
	Amostra 2	0.5	1756	14.6
	Amostra 3	0.4	1778	13.5
	Média % Desionização			14.1
2.0	Amostra 1	0.4	1789	13.0
	Amostra 2	0.4	1767	14.1
	Amostra 3	0.4	1778	13.5
	Média % Desionização			13.5

Tabela B.8: Efeito da agitação no grau de desionização para Rosé 1 - sem agitação.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	1700	
	Amostra 1	0.1	1222	28.1
	Amostra 2	0.2	1244	26.8
	Amostra 3	0.1	1222	28.1
	Média % Desionização			27.7
1.5	Amostra 1	0.2	1256	24.7
	Amostra 2	0.0	1267	24.0
	Amostra 3	0.1	1278	23.3
	Média % Desionização			24.0
2.0	Amostra 1	0.3	1278	23.3
	Amostra 2	0.1	1300	22.0
	Amostra 3	0.2	1289	22.7
	Média % Desionização			22.7

Tabela B.9: Efeito da agitação no grau de desionização para Rosé 1 - com espátula.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	1700	
	Amostra 1	0.1	1200	29.4
	Amostra 2	0.0	1200	29.4
	Amostra 3	0.1	1200	29.4
	Média % Desionização			29.4
1.5	Amostra 1	0.3	1278	24.8
	Amostra 2	0.2	1267	25.5
	Amostra 3	0.2	1267	25.5
	Média % Desionização			25.3
2.0	Amostra 1	0.3	1300	23.5
	Amostra 2	0.3	1289	24.2
	Amostra 3	0.3	1289	24.2
	Média % Desionização			24.0

Tabela B.10: Efeito da agitação no grau de desionização para Rosé 1 - com agitador.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.3	1733	
	Amostra 1	-0.5	1167	32.7
	Amostra 2	-0.6	1144	34.0
	Amostra 3	-0.2	1189	31.4
	Média % Desionização			32.7
1.5	Amostra 1	0.3	1378	20.5
	Amostra 2	0.3	1389	19.9
	Amostra 3	0.4	1367	21.2
	Média % Desionização			20.5
2.0	Amostra 1	0.3	1378	20.5
	Amostra 2	0.3	1389	19.9
	Amostra 3	0.4	1367	21.2
	Média % Desionização			20.5

Tabela B.11: Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 1 - sem agitação.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	3378	
	Amostra 1	0.3	2967	12.2
	Amostra 2	0.2	2933	13.2
	Amostra 3	0.3	2978	11.8
	Média % Desionização			12.4
1.5	Amostra 1	0.3	3000	11.2
	Amostra 2	0.3	3000	11.2
	Amostra 3	0.4	2967	12.2
	Média % Desionização			11.5
2.0	Amostra 1	0.4	3011	10.9
	Amostra 2	0.3	3011	10.9
	Amostra 3	0.4	2989	11.5
	Média % Desionização			11.1
2.5	Amostra 1	0.3	3011	10.9
	Amostra 2	0.4	3022	10.5
	Amostra 3	0.3	2989	11.5
	Média % Desionização			11.0

Tabela B.12: Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 1 - com espátula.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	3378	
	Amostra 1	0.3	3033	10.2
	Amostra 2	0.2	3011	10.9
	Amostra 3	0.2	3022	10.5
	Média % Desionização			10.5
1.5	Amostra 1	0.4	3056	9.5
	Amostra 2	0.4	3033	10.2
	Amostra 3	0.3	3044	9.9
	Média % Desionização			9.9
2.0	Amostra 1	0.4	3067	9.2
	Amostra 2	0.3	3056	9.5
	Amostra 3	0.4	3067	9.2
	Média % Desionização			9.3
2.5	Amostra 1	0.4	3067	9.2
	Amostra 2	0.3	3044	9.9
	Amostra 3	0.4	3056	9.5
	Média % Desionização			9.5

Tabela B.13: Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 1 - com agitador.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	3389	
	Amostra 1	0.1	3000	11.5
	Amostra 2	-0.1	2944	13.1
	Amostra 3	-0.1	2944	13.1
	Média % Desionização			12.6
1.5	Amostra 1	0.3	3044	10.2
	Amostra 2	0.3	3022	10.8
	Amostra 3	0.3	3056	9.8
	Média % Desionização			10.3
2.0	Amostra 1	0.4	3056	9.8
	Amostra 2	0.4	3067	9.5
	Amostra 3	0.4	3089	8.9
	Média % Desionização			9.4

Tabela B.14: Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 2 - sem agitação.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	2689	
	Amostra 1	0.4	2433	9.5
	Amostra 2	0.2	2333	13.2
	Amostra 3	0.3	2378	11.6
	Média % Desionização			11.4
1.5	Amostra 1	0.3	2400	10.4
	Amostra 2	0.4	2411	10.0
	Amostra 3	0.5	2411	10.0
	Média % Desionização			10.1
2.0	Amostra 1	0.3	2422	9.5
	Amostra 2	0.4	2422	9.5
	Amostra 3	0.4	2422	9.5
	Média % Desionização			9.5
2.5	Amostra 1	0.3	2422	9.5
	Amostra 2	0.3	2433	9.1
	Amostra 3	0.3	2422	9.5
	Média % Desionização			9.4

Tabela B.15: Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 2 - com espátula.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	2689	
	Amostra 1	0.2	2356	12.4
	Amostra 2	0.1	2356	12.4
	Amostra 3	0.2	2367	12.0
	Média % Desionização			12.3
1.5	Amostra 1	0.4	2411	10.3
	Amostra 2	0.3	2411	10.3
	Amostra 3	0.4	2411	10.3
	Média % Desionização			10.3
2.0	Amostra 1	0.4	2422	9.9
	Amostra 2	0.3	2433	9.5
	Amostra 3	0.4	2433	9.5
	Média % Desionização			9.6
2.5	Amostra 1	0.4	2433	9.5
	Amostra 2	0.4	2433	9.5
	Amostra 3	0.4	2444	9.1
	Média % Desionização			9.4

Tabela B.16: Efeito da agitação no grau de desionização para Tinto 2 - com agitador.

Tempo (h)	* Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	2689	
	Amostra 1	0.1	2378	11.6
	Amostra 2	0.2	2378	11.6
	Amostra 3	0.1	2367	12.0
	Média % Desionização			11.7
1.5	Amostra 1	0.4	2456	8.7
	Amostra 2	0.3	2456	8.7
	Amostra 3	0.3	2444	9.1
	Média % Desionização			8.8
2.0	Amostra 1	0.4	2478	7.9
	Amostra 2	0.5	2478	7.9
	Amostra 3	0.3	2456	8.7
	Média % Desionização			8.1

B.1.2.B Temperatura de Congelação

Tabela B.17: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Branco 2 - gaveta A.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.5	2056	
	Amostra 1	0.4	1733	15.7
	Amostra 2	0.4	1678	18.4
	Amostra 3	0.4	1689	17.8
	Média % Desionização			17.3
1.5	Amostra 1	0.6	1789	13.0
	Amostra 2	0.6	1767	14.1
	Amostra 3	0.6	1778	13.5
	Média % Desionização			13.5
2.0	Amostra 1	0.6	1822	11.4
	Amostra 2	0.6	1789	13.0
	Amostra 3	0.6	1800	12.4
	Média % Desionização			12.3

Tabela B.18: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Branco 2 - gaveta B.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.5	2056	
	Amostra 1	0.4	1711	16.8
	Amostra 2	0.2	1667	18.9
	Amostra 3	0.2	1689	17.8
	Média % Desionização			17.8
1.5	Amostra 1	0.4	1767	14.1
	Amostra 2	0.5	1756	14.6
	Amostra 3	0.4	1767	14.1
	Média % Desionização			14.2
2.0	Amostra 1	0.6	1789	13.0
	Amostra 2	0.4	1767	14.1
	Amostra 3	0.4	1778	13.5
	Média % Desionização			13.5

Tabela B.19: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Branco 2 - gaveta C.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.6	2089	
	Amostra 1	0.4	1689	19.1
	Amostra 2	0.3	1633	21.8
	Amostra 3	0.4	1633	21.8
	Média % Desionização			20.9
1.5	Amostra 1	0.5	1767	15.4
	Amostra 2	0.5	1756	16.0
	Amostra 3	0.5	1756	16.0
	Média % Desionização			15.8
2.0	Amostra 1	0.6	1800	13.8
	Amostra 2	0.6	1789	14.4
	Amostra 3	0.6	1789	14.4
	Média % Desionização			14.2

Tabela B.20: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Rosé 1 - gaveta A.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.5	1722	
	Amostra 1	0.0	1211	29.7
	Amostra 2	-0.1	1211	29.7
	Amostra 3	-0.1	1200	30.3
	Média % Desionização			29.9
1.5	Amostra 1	0.4	1367	20.6
	Amostra 2	0.4	1356	21.3
	Amostra 3	0.4	1367	20.6
	Média % Desionização			20.9
2.0	Amostra 1	0.6	1367	20.6
	Amostra 2	0.5	1356	21.3
	Amostra 3	0.5	1367	20.6
	Média % Desionização			20.9

Tabela B.21: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Rosé 1 - gaveta B.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	1711	
	Amostra 1	0.0	1211	29.2
	Amostra 2	-0.1	1178	31.2
	Amostra 3	-0.5	1167	31.8
	Média % Desionização			30.7
1.5	Amostra 1	0.4	1344	21.4
	Amostra 2	0.3	1333	22.1
	Amostra 3	0.2	1333	22.1
	Média % Desionização			21.9
2.0	Amostra 1	0.4	1356	20.8
	Amostra 2	0.4	1356	20.8
	Amostra 3	0.4	1356	20.8
	Média % Desionização			20.8

Tabela B.22: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Rosé 1 - gaveta C.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.3	1711	
	Amostra 1	-0.1	1189	30.5
	Amostra 2	-0.1	1200	29.9
	Amostra 3	0.1	1200	29.9
	Média % Desionização			30.1
1.5	Amostra 1	0.4	1344	21.4
	Amostra 2	0.3	1356	20.8
	Amostra 3	0.4	1356	20.8
	Média % Desionização			21.0
2.0	Amostra 1	0.4	1356	20.8
	Amostra 2	0.4	1367	20.1
	Amostra 3	0.5	1378	19.5
	Média % Desionização			20.1

Tabela B.23: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 1 - gaveta A.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	3378	
	Amostra 1	0.0	2922	13.5
	Amostra 2	0.1	2933	13.2
	Amostra 3	0.1	2956	12.5
	Média % Desionização			13.0
1.5	Amostra 1	0.4	3089	8.6
	Amostra 2	0.4	3067	9.2
	Amostra 3	0.4	3067	9.2
	Média % Desionização			9.0
2.0	Amostra 1	0.5	3100	8.2
	Amostra 2	0.5	3078	8.9
	Amostra 3	0.5	3089	8.6
	Média % Desionização			8.6

Tabela B.24: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 1 - gaveta B.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	3389	
	Amostra 1	0.1	3000	11.5
	Amostra 2	-0.1	2944	13.1
	Amostra 3	0.0	2978	12.1
	Média % Desionização			12.2
1.5	Amostra 1	0.3	3044	10.2
	Amostra 2	0.3	3022	10.8
	Amostra 3	0.3	3044	10.2
	Média % Desionização			10.4
2.0	Amostra 1	0.4	3056	9.8
	Amostra 2	0.4	3067	9.5
	Amostra 3	0.4	3067	9.5
	Média % Desionização			9.6

Tabela B.25: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 1 - gaveta C.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.5	3333	
	Amostra 1	-0.3	2856	14.3
	Amostra 2	-0.1	2889	13.3
	Amostra 3	0.1	2900	13.0
	Média % Desionização			13.6
1.5	Amostra 1	0.4	3011	9.7
	Amostra 2	0.4	3022	9.3
	Amostra 3	0.4	3000	10.0
	Média % Desionização			9.7
2.0	Amostra 1	0.4	3022	9.3
	Amostra 2	0.4	3033	9.0
	Amostra 3	0.5	3022	9.3
	Média % Desionização			9.2

Tabela B.26: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 2 - gaveta A.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	2667	
	Amostra 1	0.4	2400	10.0
	Amostra 2	0.2	2344	12.1
	Amostra 3	0.2	2356	11.7
	Média % Desionização			11.3
1.5	Amostra 1	0.4	2456	7.9
	Amostra 2	0.5	2444	8.3
	Amostra 3	0.5	2444	8.3
	Média % Desionização			8.2
2.0	Amostra 1	0.5	2478	7.1
	Amostra 2	0.6	2478	7.1
	Amostra 3	0.6	2478	7.1
	Média % Desionização			7.1

Tabela B.27: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 2 - gaveta B.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	2689	
	Amostra 1	0.1	2378	11.6
	Amostra 2	0.2	2378	11.6
	Amostra 3	0.2	2400	10.7
	Média % Desionização			11.3
1.5	Amostra 1	0.4	2456	8.7
	Amostra 2	0.3	2456	8.7
	Amostra 3	0.3	2467	8.3
	Média % Desionização			8.5
2.0	Amostra 1	0.4	2478	7.9
	Amostra 2	0.5	2478	7.9
	Amostra 3	0.4	2489	7.4

Tabela B.28: Efeito da temperatura de congelação no grau de desionização para Tinto 2 - gaveta C.

Tempo (h)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.0	Testemunho	0.4	2644	
	Amostra 1	0.1	2311	12.6
	Amostra 2	0.1	2278	13.9
	Amostra 3	0.1	2278	13.9
	Média % Desionização			13.4
1.5	Amostra 1	0.4	2411	8.8
	Amostra 2	0.4	2378	10.1
	Amostra 3	0.4	2378	10.1
	Média % Desionização			9.7
2.0	Amostra 1	0.4	2444	7.6
	Amostra 2	0.4	2400	9.2
	Amostra 3	0.5	2411	8.8
	Média % Desionização			8.5

B.1.2.C Tempo de Agitação

Tabela B.29: Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Branco 1.

Duração da Agitação (min)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1	Testemunho	0.5	1956	
	Amostra 1	0.4	1667	14.8
	Amostra 2	0.4	1644	15.9
	Amostra 3	0.5	1656	15.3
	Média % Desionização			15.3
2	Testemunho	0.6	1989	
	Amostra 1	0.4	1700	14.5
	Amostra 2	0.3	1689	15.1
	Amostra 3	0.3	1678	15.6
	Média % Desionização			15.1
3	Testemunho	0.6	1989	
	Amostra 1	0.4	1733	12.8
	Amostra 2	0.5	1733	12.8
	Amostra 3	0.4	1744	12.3
	Média % Desionização			12.7

Tabela B.30: Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Branco 2.

Duração da Agitação (min)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1	Testemunho	0.6	2078	
	Amostra 1	0.4	1767	15.0
	Amostra 2	0.4	1778	14.4
	Amostra 3	0.4	1800	13.4
	Média % Desionização			14.3
2	Testemunho	0.6	2078	
	Amostra 1	0.5	1811	12.8
	Amostra 2	0.4	1811	12.8
	Amostra 3	0.4	1822	12.3
	Média % Desionização			12.7
3	Testemunho	0.6	2078	
	Amostra 1	0.5	1811	12.8
	Amostra 2	0.4	1800	13.4
	Amostra 3	0.5	1811	12.8
	Média % Desionização			12.7

Tabela B.31: Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Rosé 1.

Duração da Agitação (min)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1	Testemunho	0.4	1700	
	Amostra 1	0.3	1300	23.5
	Amostra 2	0.2	1300	23.5
	Amostra 3	0.3	1300	23.5
	Média % Desionização			23.5
2	Testemunho	0.3	1689	
	Amostra 1	0.1	1322	21.7
	Amostra 2	0.0	1322	21.7
	Amostra 3	0.1	1333	21.1
	Média % Desionização			21.5
3	Testemunho	0.3	1689	
	Amostra 1	0.2	1322	21.7
	Amostra 2	0.0	1311	22.4
	Amostra 3	0.3	1344	20.4
	Média % Desionização			21.5

Tabela B.32: Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Tinto 1.

Duração da Agitação (min)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1	Testemunho	0.4	3378	
	Amostra 1	0.2	3044	9.9
	Amostra 2	0.2	3044	9.9
	Amostra 3	0.3	3100	8.2
	Média % Desionização			9.3
2	Testemunho	0.6	3356	
	Amostra 1	0.4	2989	10.9
	Amostra 2	0.3	3000	10.6
	Amostra 3	0.3	2989	10.9
	Média % Desionização			10.8
3	Testemunho	0.6	3356	
	Amostra 1	0.4	3011	10.3
	Amostra 2	0.3	2978	11.3
	Amostra 3	0.3	2978	11.3
	Média % Desionização			10.9

Tabela B.33: Efeito da duração da agitação no grau de desionização para Tinto 2.

Duração da Agitação (min)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1	Testemunho	0.4	2689	
	Amostra 1	0.4	2422	9.9
	Amostra 2	0.4	2422	9.9
	Amostra 3	0.4	2411	10.3
	Média % Desionização			10.1
2	Testemunho	0.5	2689	
	Amostra 1	0.5	2456	8.7
	Amostra 2	0.5	2467	8.3
	Amostra 3	0.5	2467	8.3
	Média % Desionização			8.4
3	Testemunho	0.5	2689	
	Amostra 1	0.5	2467	8.3
	Amostra 2	0.5	2467	8.3
	Amostra 3	0.6	2478	7.9
	Média % Desionização			8.1

B.1.2.D Volume de Água Congelada

Tabela B.34: Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Branco 1.

Volume (L)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.3	Testemunho	1.9	2011	
	Amostra 1	1.4	1767	12.2
	Amostra 2	1.3	1756	12.7
	Amostra 3	1.1	1722	14.4
	Média % Desionização			13.1
1.5	Testemunho	1.1	2000	
	Amostra 1	1.0	1733	13.3
	Amostra 2	0.9	1733	13.3
	Amostra 3	0.9	1711	14.4
	Média % Desionização			13.7

Tabela B.35: Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Branco 2.

Volume (L)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.3	Testemunho	0.6	2078	
	Amostra 1	0.8	1833	11.8
	Amostra 2	0.7	1811	12.8
	Amostra 3	0.8	1800	13.4
	Média % Desionização			12.7
1.5	Testemunho	0.6	2078	
	Amostra 1	0.5	1811	12.8
	Amostra 2	0.6	1811	12.8
	Amostra 3	0.6	1822	12.3
	Média % Desionização			13.7

Tabela B.36: Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Rosé 1.

Volume (L)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.3	Testemunho	3.0	1789	
	Amostra 1	1.4	1400	21.7
	Amostra 2	1.0	1389	22.4
	Amostra 3	0.8	1344	24.8
	Média % Desionização			23.0
1.5	Testemunho	1.8	1778	
	Amostra 1	1.0	1411	20.6
	Amostra 2	0.9	1367	23.1
	Amostra 3	0.7	1356	23.8
	Média % Desionização			13.7

Tabela B.37: Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Tinto 1.

Volume (L)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.3	Testemunho	1.9	3467	
	Amostra 1	1.1	3144	9.3
	Amostra 2	0.9	3133	9.6
	Amostra 3	0.7	3089	10.9
	Média % Desionização			9.9
1.5	Testemunho	1.4	3444	
	Amostra 1	0.9	3100	10.0
	Amostra 2	0.8	3100	10.0
	Amostra 3	0.8	3067	11.0
	Média % Desionização			10.3

Tabela B.38: Efeito do volume de água congelada no grau de desionização para Tinto 2.

Volume (L)	Amostra	T (°C)	κ_{25} ($\mu\text{S/cm}$)	Grau de Desionização (%)
1.3	Testemunho	2.0	2778	
	Amostra 1	1.4	2567	7.6
	Amostra 2	1.2	2544	8.4
	Amostra 3	0.9	2522	9.2
	Média % Desionização			8.4
1.5	Testemunho	1.7	2767	
	Amostra 1	1.2	2567	7.2
	Amostra 2	1.1	2567	7.2
	Amostra 3	0.9	2533	8.4
	Média % Desionização			7.6

