

U. PORTO

FC FACULDADE DE CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE DO PORTO



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

*IMPACTO DA ROLHA DE CORTIÇA NA COMPOSIÇÃO
POLIFENÓLICA DE VINHOS TINTOS ENGARRAFADOS*

Ana Luísa Mosqueira Alves Pires Fernandes

Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
Departamento de Química

Novembro 2007

Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Departamento de Química

Escola de Engenharia da Universidade do Minho

*IMPACTO DA ROLHA DE CORTIÇA NA COMPOSIÇÃO
POLIFENÓLICA DE VINHOS TINTOS ENGARRAFADOS*

*Tese submetida à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para a
obtenção do grau de Mestre em Tecnologia, Ciência e Segurança Alimentar*

Ana Luísa Mosqueira Alves Pires Fernandes

Outubro 2007

Agradecimentos

Este trabalho não teria sido possível sem a colaboração de algumas pessoas e entidades que contribuíram de forma relevante para a execução do mesmo. Daí que gostaria de prestar um sincero agradecimento:

Ao meu orientador, o Professor Doutor Victor de Freitas por toda a ajuda, apoio e disponibilidade que sempre demonstrou no decurso deste trabalho. Um sincero agradecimento por todos os ensinamentos que me transmitiu.

Ao professor Doutor Nuno Mateus, pelos seus conselhos, apoio e boa disposição.

À Dra. Adelina pela ajuda que me dispensou na realização deste trabalho e pela sua simpatia e amizade.

Um agradecimento ao BIOCANT pelos apoios logísticos e financeiros concedidos para a realização deste trabalho.

A todos os meus Colegas e Amigos de laboratório com quem convivi durante estes últimos anos. Um agradecimento especial pelo seu acolhimento, pelo ótimo ambiente e sobretudo pelo companheirismo e pelo espírito de equipa criado.

Aos meus Amigos, Luís, Susana, João, Cláudia, Fred, Isabel, Ana Margarida, Ana Isabel, Andreia e Gabriela por todos os momentos inesquecíveis partilhados.

Não podia deixar de agradecer à minha família, pela sua disponibilidade para ajudar e pelo interesse demonstrado.

E por fim ao Rui, por estar sempre presente, pelo seu apoio e incentivo constante e sobretudo por me fazer acreditar que tudo é possível.

Objectivo

A ameaça da entrada de novos vedantes que potencialmente eliminam os problemas relacionados com a utilização das rolhas de cortiça, nomeadamente o aroma / gosto a mofo resultante sobretudo do tricloroanisol, criou a necessidade de fundamentar cientificamente a utilização da cortiça como vedante de qualidade.

Suspeita-se que durante o armazenamento e a maturação do vinho em garrafa podem ser extraídos da cortiça um vasto conjunto de compostos que participam activamente numa série de reacções com os constituintes do vinho, o que não acontece com vedantes sintéticos. Estas reacções poderão resultar na formação de novos compostos que afectam a composição físico-química dos vinhos, conferindo-lhe características diferentes em termos de aroma, sabor e cor. Para além disto, o facto de que a cortiça “respira” permitindo trocas gasosas, poderá levar à criação de equilíbrios mais estáveis que propiciem a maturação e o envelhecimento dos vinhos engarrafados.

Assim, este trabalho teve como objectivo o estudo da interacção vedante-vinho com a finalidade de avaliar o impacto da rolha de cortiça *versus* diferentes tipos de vedantes sintéticos e *screw-cap* na composição polifenólica e nas propriedades antioxidantes do vinho tinto. Para tal, procedeu-se à caracterização dos principais compostos fenólicos associados à cor (antocianinas) e ao sabor (taninos) de vinhos tintos e à determinação da sua capacidade antiradicalar e poder redutor.

Resumo

Este trabalho incidiu no estudo da interacção vedante-vinho e mais concretamente na caracterização dos principais compostos fenólicos associados por um lado à cor e ao sabor (adstringência e amargor) dos vinhos e por outro lado, à sua capacidade de envelhecimento. Para além dos aspectos qualitativos em termos sensoriais, estes compostos também apresentam algumas propriedades biológicas importantes nomeadamente a nível da prevenção das doenças cardiovasculares.

Foram seleccionados vinhos do Porto e vinhos de mesa de diversas proveniências que foram engarrafados com diferentes tipos de vedantes: rolha de cortiça natural, rolha técnica, vedante de polímero sintético e *screw-cap*. Efectuou-se um estudo comparativo da composição polifenólica destes vinhos, tendo sido avaliados os seguintes parâmetros:

- Índice de cor, índice de fenóis totais (abs 280 nm) e índice de diálise por espectrofotometria de ultravioleta-visível;
- Componentes colorimétricas por CIELab;
- Taninos proantociânicos totais (TPA), antocianinas livres totais (ALT) e Índice Folin-Ciocalteu por derivatização química e análise espectrofotométrica.
- Catequinas e procianidinas oligoméricas por fraccionamento por cromatografia em coluna e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).
- Antocianinas 3-monoglicosídicas e respectivos derivados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).
- Poder tanante e teor em polissacáridos por nefelometria.

Os diferentes vedantes usados para engarrafar os vinhos induziram algumas alterações nos parâmetros polifenólicos estudados. Verificou-se que os vinhos engarrafados com os vedantes sintéticos Sinteticor[®] e Supremecorq[®] apresentam um índice de cor vermelha e índice de cor superior (L^* inferior; vinhos mais opacos). Possuem uma maior contribuição da absorvância a 420 nm para a cor final o que poderá indicar desvios no sentido de tonalidades mais alaranjadas (valores de b^* e H° superiores). Estes vinhos apresentam ainda um maior índice de diálise, possuindo compostos fenólicos mais polimerizados.

Verificou-se que os vinhos engarrafados com rolha de cortiça natural são estruturalmente mais simples, possuindo um maior teor em flavan-3-óis. Apresentam igualmente uma

concentração superior em compostos fenólicos e em polissacáridos, possuindo um menor poder tanante.

Os vinhos engarrafados com *screw-cap* possuem uma maior concentração em antocianinas 3-monoglucósidas.

Na segunda parte deste trabalho, procedeu-se ainda à avaliação de algumas propriedades antioxidantes dos mesmos vinhos, nomeadamente a capacidade antiradicalar e o poder redutor recorrendo a métodos espectrofotométricos como o método do DPPH e FRAP. Verificou-se que os vinhos engarrafados com rolha de cortiça apresentam uma maior capacidade antiradicalar. Este aumento deverá estar relacionado com o teor em flavan-3-óis que nestes vinhos é superior.

Abstract

The main goal of this work was to study the influence of different types of closure on the polyphenolic content of red bottled wines. Phenolic compounds are responsible for wine major organoleptic characteristics, particularly color, astringency and bitterness. Beyond these sensorial aspects, these compounds have been recognized as responsible for several beneficial physiological effects associated with red wine consumption.

Port Wines and red table wines from different proveniences were selected and bottled with different types of closures: conventional natural cork stoppers, technical corks, synthetic and screw-cap closures. The analytical composition of the wines regarding their content in phenolic compounds was evaluated:

- color index, total polyphenols (abs 280 nm) and polymerization degree index by spectrophotometry analysis;
- colorimetric parameters by CIELab;
- total proanthocyanidins (condensed tannins), total anthocyanins and Folin-Ciocalteua index by chemical derivatisation and spectrophotometry analysis;
- catechins and oligomeric procyanidins by gel chromatography and HPLC;
- total anthocyanidins monoglucosides by HPLC;
- tanning power and wine polysaccharides conten by nefelometry.

Different types of closures induced significant changes on the phenolic parameters studied.

Sinteticor[®] and Supremecorq[®] synthethic closures induced greater colorimetric changes. Wines bottled with synthetic closures presented a higher red color index and overall color intensity (lower L*; darkest wines). These wines also presented a higher absorbance at 420 nm which indicate more orange/yellow tonalities (higher b* e H°). These wines also presented a higher polymerization degree index.

Wines bottled with natural cork closures are structurally simpler, possessing a bigger content in flavanols (monomers and oligomers). They equally present a higher concentration in wine polysaccharides and total phenols, having a lower tanning power.

Wines bottled with screw-cap closures seemed to have a higher concentration in monomeric anthocyanins.

In the second part of this work, antioxidant activity of red table wines was evaluated. The antiradical and reducing properties were assessed using DPPH and FRAP methods. Wines bottled with cork stoppers present a higher antiradical capacity. This increase should be related to the flavanols content.

Résumé

Le but principal de ce travail était d'étudier l'influence de différents types de fermeture sur la teneur polyphénolique des vins rouges mis en bouteille. Les composés phénoliques sont responsables par les caractéristiques organoleptiques principales de vin, en particulier la couleur, l'astringence et l'amertume. Au delà de ces aspects sensoriels, ces composés ont été identifiés comme responsables de plusieurs effets physiologiques bénéfiques liés à la consommation de vin rouge.

Des vins de Porto et des vins de table rouges de différentes provenances ont été choisis et mis en bouteille avec des différents types de fermetures : taquets conventionnels de liège, lièges techniques, synthétique et fermetures de couvercle à visser. La composition analytique des vins concernant leur contenu dans les composés phénoliques a été étudiée:

- intensité de couleur, polyphénols totaux (abs 280 nm) et index de degré de polymérisation par analyse de spectrophotométrie;
- paramètres colorimétriques par CIELab ;
- total de proanthocyanidines (tannins condensés), totale d'anthocyanines et index de Folin-Ciocalteu par dérivatisation chimique et analyse de spectrophotométrie;
- catéchine et procyanidines oligomériques par la chromatographie en colonne et HPLC;
- total d'anthocyanidine monoglucosides par HPLC;
- pouvoir tannant et contenu de polysaccharides de vin par néphélométry.

Les différents types de fermetures induisent des changements cruciaux des paramètres phénolique étudiés.

Les fermetures synthétiques de Sinteticor® et de Supremecorq® induisent les plus grands changements colorimétriques. Les vins mis en bouteille avec les fermetures synthétiques ont présenté un index plus élevé de couleur rouge et une plus grande intensité globale de couleur (L^* inférieur ; vins plus foncés). Ces vins ont également présenté une absorbance plus élevée à 420 nm, ce qui indique des tonalités plus oranges/ jaunes (un b^* plus élevé). Ces vins ont également présenté un degré de polymérisation polyphénolique plus élevé.

Les vins mis en bouteille avec des fermetures de liège normal sont structurellement plus simples, possédant un plus grand contenu en flavanols (monomères et oligomères). Ils présentent également une concentration plus élevée en polysaccharides de vin et phénols totaux, ayant une puissance tannante inférieure.

Les vins mis en bouteille avec des fermetures de couvercle à visser ont semblé avoir une concentration plus élevée an anthocyanines monomériques.

Dans la deuxième partie de ce travail, l'activité antioxydante des vins de table rouges a été évaluée. Les propriétés antiradicalaires et réductrices ont été évaluées en utilisant les méthodes DPPH et FRAP. Les vins mis en bouteille avec des taquets de liège présentent une capacité antiradicalaire plus élevée. Cette augmentation dest probablement liée au ontenu de flavanols.

Índice Geral

Índice de Figuras	v
Índice de tabelas	xi
Lista de Abreviaturas e Símbolos	xv
INTRODUÇÃO	1
1. Compostos fenólicos: propriedades e relevância.....	3
2. Estrutura dos compostos fenólicos	3
2.1. Flavonóides.....	4
2.1.1 Flavanóis	4
2.1.2. Estrutura e propriedades dos principais taninos nas plantas.....	9
2.1.3. Antocianinas.....	10
2.1.3.1. Equilíbrio das antocianinas em solução.....	12
2.1.3.2. Copigmentação.....	13
2.1.3.3. Reacção das antocianinas com o bissulfito.....	13
3. Transformações químicas dos compostos fenólicos nos vinhos	14
4. Utilização e importância da cortiça em enologia.....	16
4.1. Tipos de vedantes de cortiça.....	18
4.2. Outros vedantes	20
4.2.1. Vedantes sintéticos.....	20
4.2.2. Vedantes screw-cap.....	21
5. Composição química da cortiça.....	22
6. Extração de compostos fenólicos da cortiça	24
6.1. Caracterização de alguns compostos fenólicos extraídos da cortiça.....	26
6.1.1. Ácidos fenólicos.....	26
6.1.2. Aldeídos fenólicos.....	27
6.1.3. Cumarinas	27
6.1.4. Taninos hidrolisáveis.....	28
7. Envelhecimento do vinho em garrafa	29
7.1. Efeito dos vedantes no vinho	30
8. Impacto Económico.....	32
DESCRIÇÃO DO TRABALHO	33
MATERIAL E MÉTODOS	37
1. Identificação e caracterização das amostras	39
1.1. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante sintético vs screw-cap em vinhos tintos do Porto (colheita 2003).....	39
1.2. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante sintético (com e sem tratamento de superfície) em vinhos tintos de mesa (colheita 1997).....	40
1.3. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante screw-cap em vinhos tintos de mesa (colheita 2005).....	40
1.4. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante sintético em vinhos tintos de mesa (colheita 2005)	41

2. Características cromáticas	42
2.1. Índice cor vermelha	42
2.2. Índice de cor	42
2.3. CIELab	43
3. Análise de antocianinas	44
3.1. Antocianinas livres (método do bissulfito).....	44
3.2. Antocianinas monoglucósidas e derivados pirúvicos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	45
4. Doseamento de taninos proantociânicos totais (TPA).....	46
5. Doseamento dos flavan-3-óis	48
5.1. Fraccionamento dos extractos de vinho por cromatografia líquida em coluna de gel	48
5.2. Análise das catequinas e procianidinas oligoméricas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	48
6. Poder tanante dos vinhos	50
7. Índice diálise dos vinhos.....	51
8. Doseamento de fenóis totais – Índice Folin-Ciocalteu	52
9. Doseamento de polissacáridos	53
10. Propriedades antioxidantes	53
10.1. Capacidade antiradicalar.....	53
10.2. Avaliação do poder redutor	54
11. Análise estatística	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
1. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante sintético vs vedante screw-cap em vinhos tintos do Porto (colheita 2003).....	59
1.1. Características cromáticas	59
1.2. Análise de antocianinas	67
1.3. Análise de taninos condensados e índice de diálise.....	71
1.4. Doseamento de fenóis totais	74
1.5. Poder tanante e teor em polissacáridos	76
1.6. Conclusão	80
2. Ensaio de rolha de cortiça vs vedantes sintéticos (com e sem tratamento de superfície) em vinhos tintos de mesa (colheita 1997).....	82
2.1. Características cromáticas	82
2.2. Análise de antocianinas	87
2.3. Análise dos flavan-3-óis	93
2.4. Análise de taninos condensados, índice de diálise e índice de fenóis totais	95
2.5. Análise do poder tanante e teor em polissacáridos	98
2.6. Avaliação da capacidade antiradicalar e do poder redutor	100
2.7. Conclusão	103

3. Ensaio de rolha de cortiça versus vedante screw-cap em vinhos tintos de mesa (colheita 2005).....	105
3.1. Características cromáticas	105
3.2. Análise de antocianinas	110
3.3. Análise dos flavan-3-óis	115
3.4. Análise de taninos condensados, índice de diálise e índice de fenóis totais	117
3.5. Análise do poder tanante e teor em polissacáridos	120
3.6. Avaliação da capacidade antiradicalar e do poder redutor	122
3.7. Conclusão	124
4. Ensaio de rolhas de cortiça vs vedante sintético em vinhos tintos de mesa (colheita 2005).....	126
4.1. Características cromáticas	126
4.2 Análise de antocianinas	131
4.3. Análise dos flavan-3-óis	134
4.4. Análise de taninos condensados, índice de diálise e índice de fenóis totais	136
4.5. Poder tanante e teor em polissacáridos	139
4.6. Avaliação da capacidade antiradicalar e do poder redutor	141
4.7. Conclusão	143
CONCLUSÕES GERAIS	145
BIBLIOGRAFIA	151

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura do núcleo flavânico.....	4
Figura 2. Estruturas das unidades monoméricas dos flavan-3-óis (catequinas e galhocatequinas).	5
Figura 3. Decomposição das proantocianidinas por aquecimento e em meio ácido (Bate-Smith, 1954a).	6
Figura 4. Estrutura das procianidinas diméricas do tipo B.	7
Figura 5. Estrutura da procianidina dimérica do tipo A2.	7
Figura 6. Estrutura da procianidina trimérica do tipo C1.	8
Figura 7. Esquema geral das proantocianidinas polimerizadas (Haslam, 1998).....	9
Figura 8. Estrutura do catião flavílio.	10
Figura 9. Estrutura das agliconas das principais antocianinas presentes nas espécies <i>Vitis vinifera</i>	11
Figura 10. Estrutura das antocianidinas 3-monoglucosídicas e respectivos ésteres acilados.	11
Figura 11. Formas de equilíbrio das antocianinas em solução.	12
Figura 12. Equação química que traduz a reacção do bissulfito com as antocianinas.	13
Figura 13. Células da cortiça (adaptado do site da Associação Portuguesa de Cortiça - APCOR).	17
Figura 14. Suberina: éster glicerol- ω -hidroxiácido-ácido ferúlico.	23
Figura 15. Unidade base da estrutura da lenhina.	23
Figura 16. Estrutura dos ácidos fenólicos (A - ácidos benzóicos; B - ácidos cinâmicos).....	26
Figura 17. Estrutura dos aldeídos fenólicos (A - aldeídos benzóicos; B - aldeídos cinâmicos).	27
Figura 18. Estrutura das cumarinas.	28
Figura 19. Estrutura de taninos hidrolisáveis (elágicos).....	28
Figura 20. Círculo cromático.....	43
Figura 21. Cromatograma de HPLC das antocianinas presentes num vinho novo. 1: 3-glucósido de delfinidina; 2: 3-glucósido de cianidina; 3: 3-glucósido de petunidina; 4: 3-glucósido de peonidina; 5: 3-glucósido de malvidina; 6: 3-acetilglucósido de delfinidina; 7: 3-acetilglucósido de cianidina; 8: 3-acetilglucósido de petunidina; 9: 3-acetilglucósido de peonidina; 10: 3-cumaroíglucósido de delfinidina; 11: 3-acetilglucósido de malvidina; 12: 3-cumaroíglucósido de cianidina; 13: 3-cafeoilglucósido de peonidina; 14: 3-cumaroíglucósido de petunidina; 15: 3-cafeoilglucósido de malvidina; 16: 3-cumaroíglucósido de peonidina; 17: 3-cumaroíglucósido de malvidina.....	46
Figura 22. Cromatograma de HPLC da fracção A de um vinho.....	49
Figura 23. Cromatograma de HPLC da fracção B de um vinho.....	50
Figura 24. Índice de cor vermelha (abs 520 nm) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) obtido ao fim de 2 anos de engarrafamento.	61
Figura 25. Abs 420 nm dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) obtida ao fim de 2 anos de engarrafamento.	62
Figura 26. Índice de cor dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) determinada ao fim de 2 anos de engarrafamento.....	63

Figura 27. Valor médio do parâmetro L^* (luminosidade) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) determinado ao fim de 2 anos de engarrafamento.	65
Figura 28. Valor médio do parâmetro b^* dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) obtido ao fim de 2 anos de engarrafamento.	66
Figura 29. Valores médios do parâmetro b^* e abs a 420 nm dos vinhos B engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) obtidos ao fim de 2 anos de engarrafamento.	67
Figura 30. Valores médios de antocianinas livres (ALT, mg.L^{-1}) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.	69
Figura 31. Valores médios de antocianinas polimerizadas (AP, %) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.	69
Figura 32. Cromatograma de HPLC das antocianinas presentes no vinho A engarrafado com rolha de cortiça: 1: 3-glucósido de malvidina; 2: derivado pirúvico do 3-glucósido de malvidina; 3: derivado pirúvico do 3-cumaróilglucósido de malvidina.	70
Figura 33. Valores médios de taninos proantocianínicos totais (TPA, g.L^{-1}) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.	73
Figura 33. Valores médios do índice de diálise (I.D) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.	73
Figura 35. Valores médios do índice de fenóis totais (IFT; $\text{g equi. catequina.L}^{-1}$) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.	75
Figura 36. Valores médios de poder tanante (PT; NTU. mL^{-1} vinho) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.	77
Figura 37. Valores médios do teor em polissacáridos (g.L^{-1}) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i>) ao fim de 2 anos de engarrafamento. ..	79
Figura 38. Índice de cor vermelha (abs 520 nm) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) obtido ao fim de 8 anos de engarrafamento.	83
Figura 39. Absorvância a 420 nm dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) obtida ao fim de 8 anos de engarrafamento.	84
Figura 40. Índice de cor dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) obtida ao fim de 8 anos de engarrafamento.	84

Figura 41. Parâmetro L* (luminosidade) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.....	86
Figura 42. Parâmetro b* dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.	86
Figura 43. Parâmetro b* e % abs a 420 nm dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinados ao fim de 8 anos de engarrafamento.....	87
Figura 44. Antocianinas livres (ALT; mg.L ⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinadas ao fim de 8 anos de engarrafamento.....	88
Figura 45. Antocianinas polimerizadas (AP; %) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinadas ao fim de 8 anos de engarrafamento.....	89
Figura 46. Cromatograma de HPLC das antocianinas presentes no vinho D engarrafado com rolha de cortiça: 1: 3-glucósido de malvidina; 2: derivado pirúvico do 3-glucósido de malvidina; 3: derivado pirúvico do 3-cumaroíglucósido de malvidina.	90
Figura 47. Antocianinas monoglucósidas (AMT; mg.L ⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinadas ao fim de 8 anos de engarrafamento.....	91
No que diz respeito aos pigmentos derivados de antocianinas (PDA; figura 48), os vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem um teor superior. No caso dos vinhos selados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície (amostras DT), a proporção existente entre as antocianinas monoglucósidas e os pigmentos derivados de antocianinas é superior, o que indicia uma maior evolução deste vinho.....	92
Figura 48. Pigmentos derivados de antocianinas (PDA; mg.L ⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinados ao fim de 8 anos de engarrafamento.....	92
Figura 49. Catequinas e procianidinas oligoméricas dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinadas ao fim de 8 anos de engarrafamento.....	94
Figura 50. Taninos proantociânicos totais (TPA; g.L ⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinados ao fim de 8 anos de engarrafamento.....	96
Figura 51. Índice de diálise (I.D) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.	96

Figura 52. Índice de fenóis totais (IFT; abs 280 nm) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.	97
Figura 53. Poder tanante (PT; NTU.mL ⁻¹ vinho) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.	99
Figura 54. Teor em polissacáridos (g.L ⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.	100
Figura 55. Capacidade antiradicalar (μM equivalentes trolox.mL ⁻¹ vinho) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinada ao fim de 8 anos de engarrafamento.	102
Figura 56. Poder redutor (μM equivalentes trolox.mL ⁻¹ vinho) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.	103
Figura 57. Índice de cor vermelha (abs 520 nm) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) obtido ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	106
Figura 58. Abs 420 nm dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) obtida ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	107
Figura 59. Índice de cor dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) obtida ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	107
Figura 60. Parâmetro L* (luminosidade) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	108
Figura 61. Parâmetro b* dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	109
Figura 62. Antocianinas livres (ALT; mg.L ⁻¹) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinadas ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	111
Figura 63. Antocianinas monoglucósidas (AMT; mg.L ⁻¹) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinadas ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	113
Figura 64. Percentagem de ésteres glucósidos, acéticos, cumáricos e cafeicos dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinada ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	113
Figura 65. Catequinas e procianidinas oligoméricas (PC) vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinadas ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	116

Figura 66. Taninos condensados (TPA; g.L^{-1}) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinados ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	118
Figura 67. Índice de diálise (I.D) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	118
Figura 68. Índice de fenóis totais (IFT; abs 280 nm) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	119
Figura 69. Poder tanante (PT; NTU.mL^{-1} vinho) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	121
Figura 70. Teor em polissacáridos (g.L^{-1}) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	122
Figura 71. Capacidade antiradicalar (μM equivalentes trolox. mL^{-1} vinho) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinada ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).....	123
Figura 72. Poder redutor (μM equivalentes trolox. mL^{-1} vinho) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, <i>screw-cap</i>) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).	124
Figura 73. Índice de cor vermelha (abs 520 nm) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.....	127
Figura 74. Abs 420 nm dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.	128
Figura 75. Índice de cor dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.	128
Figura 76. Parâmetro L^* (luminosidade) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.....	129
Figura 77. Parâmetro b^* dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.	130
Figura 78. Antocianinas livres (ALT; mg.L^{-1}) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; o, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.....	131

Figura 79. Antocianinas monoglucósidas (AMT; mg.L⁻¹) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento..... 133

Figura 80. Catequinas e procianidinas oligoméricas dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento..... 135

Figura 81. Taninos condensados (TPA; g.L⁻¹) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento..... 136

Figura 82. Índice de diálise (I.D) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento. 137

Figura 83. Índice de fenóis totais (IFT) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento. 138

Figura 84. Poder tanante (PT) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento. 139

Figura 85. Teor em polissacáridos dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento..... 140

Figura 86. Capacidade antiradicalar dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento..... 142

Figura 87. Poder redutor dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento..... 142

Índice de tabelas

Tabela 1. Identificação e códigos atribuídos aos vinhos do Porto (A, B e C) engarrafados com diferentes tipos de vedantes.....	39
Tabela 2. Identificação e códigos atribuídos ao vinho de mesa D engarrafado com diferentes tipos de vedantes.	40
Tabela 3. Identificação e códigos atribuídos ao vinho de mesa E engarrafado com diferentes tipos de vedantes.	41
Tabela 4. Identificação e códigos atribuídos ao vinho de mesa F engarrafado com diferentes tipos de vedantes.	42
Tabela 5. Gradiente de eluição utilizado na análise das antocianinas totais.	45
Tabela 6. Gradiente de eluição utilizado na análise das catequinas e das procianidinas oligoméricas.	49
Tabela 7. Absorvância a 420, 520 (ICV) e 620 nm e índice de cor (IC) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	60
Tabela 8. Parâmetros colorimétricos dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. Amostras com o mesmo símbolo (#) são estatisticamente diferentes entre si.	64
Tabela 9. Composição em antocianinas livres (ALT), antocianinas polimerizadas (AP), antocianinas 3-monoglucósidas (AMT) e pigmentos derivados das antocianinas (PDA) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	68
Tabela 10. Composição em taninos proantociânicos totais (TPA) e índice de diálise (I.D) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. Amostras com o mesmo símbolo (#) são estatisticamente diferentes entre si.	72
Tabela 11. Composição em fenóis totais (IFT) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C) na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.....	75
Tabela 12. Poder tanante e teor e polissacáridos dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto	

(colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes..... 77

Tabela 13. Absorvância a 420, 520 (ICV) e 620 nm e índice de cor (IC) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 82

Tabela 14. Parâmetros colorimétricos dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. Amostras com o mesmo símbolo (# ou *) são estatisticamente diferentes entre si. 85

Tabela 15. Composição em antocianinas livres (ALT), antocianinas polimerizadas (AP), antocianinas monoglucósidas (AMT) e pigmentos derivados das antocianinas (PDA) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 88

Tabela 16. Composição em catequinas e em procianidinas oligoméricas dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. 93

Tabela 17. Composição em taninos proantociânicos totais (TPA), índice de diálise (I.D) e índice de fenóis totais (IFT) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 95

Tabela 18. Poder tanante (PT) e teor em polissacáridos dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 98

Tabela 19. Capacidade antiradicalar e poder redutor dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. Amostras com o mesmo símbolo (#) são estatisticamente diferentes entre si. 100

Tabela 20. Absorvância a 420, 520 (ICV) e 620 nm e índice de cor (IC) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7

meses de engarraamento; 2, 14 meses de engarraamento. Vinho tinto de mesa (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	105
Tabela 21. Parâmetros colorimétricos dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarraamento; 2, 14 meses de engarraamento. Vinho de mesa (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	108
Tabela 22. Composição em antocianinas livres (ALT) e em antocianinas polimerizadas (AP) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarraamento; 2, 14 meses de engarraamento. Vinho de mesa tinto francês (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	110
Tabela 23. Composição em antocianinas 3-monoglucósidas (AMT) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarraamento; 2, 14 meses de engarraamento. Vinho de mesa tinto francês (colheita 2005). Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	112
Tabela 24. Composição em catequinas e em procianidinas oligoméricas dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarraamento; 2, 14 meses de engarraamento. Vinho de mesa (colheita 2005). Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	115
Tabela 25. Composição em taninos proantociânicos totais (TPA), índice de diálise (I.D) e índice de fenóis totais (IFT) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarraamento; 2, 14 meses de engarraamento. Vinho de mesa (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	117
Tabela 26. Poder tanante (PT) e teor em polissacáridos dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarraamento; 2, 14 meses de engarraamento. Vinho de mesa (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	120
Tabela 27. Capacidade antiradicalar e poder redutor dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, <i>screw-cap</i> . 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarraamento; 2, 14 meses de engarraamento. Vinho de mesa (colheita 2005).....	122
Tabela 28. Absorvância a 420, 520 (ICV) e 620 nm e índice de cor (IC) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarraamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.	126
Tabela 29. Parâmetros colorimétricos dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa	

tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes..... 129

Tabela 30. Composição em antocianinas livres totais (ALT) e antocianinas polimerizadas (AP) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 131

Tabela 31. Composição em antocianinas 3-monoglucosídicas (AMT) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 132

Tabela 33. Composição em catequinas e em procianidinas oligoméricas dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 134

Tabela 34. Composição em taninos proantociânicos totais (TPA), índice de diálise (I.D) e índice de fenóis totais (IFT) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 136

Tabela 35. Poder tanante (PT) e teor em polissacáridos dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 139

Tabela 36. Capacidade antiradicalar e poder redutor dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. 141

Lista de Abreviaturas e Símbolos

Abs - absorvância

ALT - antocianinas livres totais

AP - antocianinas polimerizadas

AMT - antocianinas 3-monoglucósidas totais

ASB - albumina sérica bovina

a* - coordenada colorimétrica (verde - vermelho)

b* - coordenada colorimétrica (amarelo - azul)

C* - cromaticidade

DAD - *diode array detector* (detector de barra de díodos)

d.i. - diâmetro interno

DPPH - *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

EtOH - etanol

FRAP - *ferric reducing ability power*

HPLC - *high performance liquid chromatography* (cromatografia líquida de alta eficiência)

H° - tonalidade

IC - intensidade corante

ICV - índice de cor vermelha

ID - índice de diálise

IFT - índice de fenóis totais

L* - luminosidade

min - minutos

Nd - não detectado

NTU - *nephelos Turbidity Units* (unidades de turbidez)

P - nível de significância estatístico

PDA - pigmentos derivados de antocianinas

PT - poder tanante

TCA - 2,4,6-tricloroanisol

TPA - taninos proantociânicos totais

TPTZ - *2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine* (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina)

UV/Vis - ultra-violeta visível

Vs – versus

INTRODUÇÃO

1. Compostos fenólicos: propriedades e relevância

Os compostos fenólicos, assim como os alcalóides, os terpenos, os polienos e os poliacetilenos são compostos naturais resultantes do metabolismo secundário das plantas (Beart *et al.*, 1985). Os primeiros intervêm directamente na pigmentação, regulação do crescimento celular e na defesa contra agentes agressores (Billot, 1983).

Os compostos fenólicos desempenham um importante papel nas características sensoriais dos alimentos. Nos vinhos, constituem um parâmetro de qualidade devido ao seu contributo para as suas características organolépticas, particularmente para a cor (*e.g.* antocianinas) e para as sensações gustativas, nomeadamente ao nível da adstringência e do amargor (*e.g.* ácidos fenólicos e flavanóis) (Ribichaud & Noble, 1990).

Para além da importância que estes compostos possuem em Enologia, tem havido um interesse cada vez maior em certos compostos fenólicos, especialmente nos flavonóides (*e.g.* proantocianidinas), nos estilbenos (*e.g.* resveratrol) e nos ácidos fenólicos devido ao seu potencial benefício para a saúde humana (Soleas *et al.*, 2002). Diversos efeitos fisiológicos benéficos foram atribuídos aos compostos fenólicos, nomeadamente acção antibacteriana, antiviral, anticarcinogénica, anti-inflamatória, antialérgica e acção vaso protectora (Ivanov *et al.*, 2001; Laranjinha & Cadenas, 1999; Santos-Buelga & Scalbert, 2000). Para além das suas reconhecidas propriedades antioxidantes, os compostos fenólicos exercem um efeito estimulador da produção de óxido nítrico (NO), a molécula-chave que desempenha um papel essencial na regulação do tónus vascular (Klurfeld & Kritchevsky, 1981; da Luz *et al.*, 1999; Yamakoshi *et al.*, 1999; Vinson *et al.*, 2001). Assim, os potenciais efeitos biológicos benéficos de um vinho, em particular no contexto da prevenção das doenças cardiovasculares dependem da sua composição em compostos fenólicos e das suas concentrações relativas.

2. Estrutura dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são caracterizados pela presença de um sistema benzénico com um ou mais grupos hidroxilo, que por sua vez se podem encontrar metilados ou glicosilados. Podem ser classificados em dois grandes grupos, os flavonóides, dos quais

fazem parte os flavanóis, os flavonóis, os flavanonóis, as flavonas e as antocianinas e em não-flavonóides que incluem os ácidos fenólicos (benzóicos e cinâmicos) e outros derivados fenólicos como os estilbenos (*e.g. resveratrol*).

2.1. Flavonóides

Os flavonóides são compostos fenólicos cuja estrutura fundamental é formada por dois anéis aromáticos ligados por um anel pirânico (Zoecklein *et al.*, 1995). Esta classe de compostos fenólicos pode dividir-se em várias famílias que se distinguem pelo grau de oxidação (grau de insaturação) do anel pirânico.

No contexto dos compostos fenólicos, os flavonóides são os principais responsáveis pelas sensações gustativas (flavan-3-óis) e pela cor dos vinhos (antocianinas), assumindo ainda um importante papel no envelhecimento dos mesmos (Jordão, 1999).

2.1.1 Flavanóis

Os flavan-3-óis e os seus derivados estruturais, as proantocianidinas ou taninos condensados são constituídos por um núcleo flavânico (figura 1) que é formado por dois anéis aromáticos (A e B) e por um anel heterocíclico pirânico C, ao qual se encontra ligado um grupo hidroxilo na posição 3.

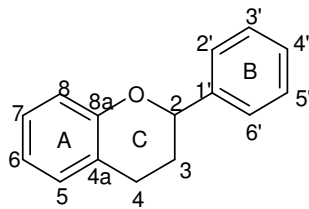


Figura 1. Estrutura do núcleo flavânico.

As várias formas de estrutura dos flavan-3-óis existentes na natureza diferem na estereoquímica dos carbonos assimétricos do anel C (C_2 e C_3) bem como no grau de hidroxilação dos anéis A e B. Os mais comuns no reino vegetal e particularmente no género *Vitis*, encontram-se hidroxilados nas posições 5 e 7 do anel A e de acordo com o número de grupos hidroxilo no anel B e com a estereoquímica do carbono 3 do anel C,

podem ser classificados como catequinas e galhocatequinas. As catequinas ((+)-catequina e (-)-epicatequina) encontram-se hidroxiladas nas posições 3' e 4' do anel B, enquanto que as galhocatequinas ((+)-galhocatequinas e (-)-epigalhocatequinas) se encontram hidroxiladas nas posições 3', 4' e 5' do anel B (figura 2).

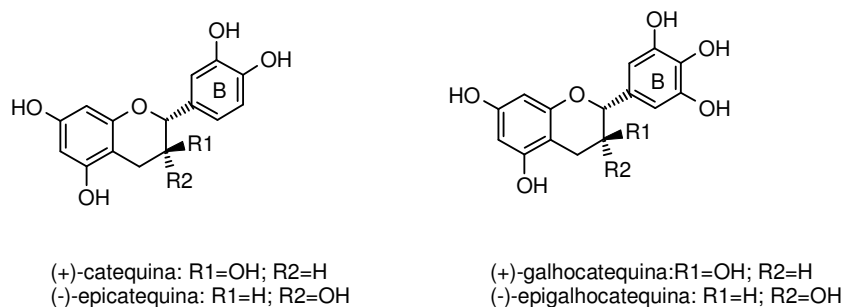


Figura 2. Estruturas das unidades monoméricas dos flavan-3-óis (catequinas e galhocatequinas).

Os flavan-3-óis podem ainda encontrar-se esterificados com o ácido gálico ou glicosilados na posição O-3 do anel pirânico C (Piretti *et al.*, 1976; Lee & Jaworski, 1990), embora a forma glicosilada seja pouco comum no reino vegetal (Porter, 1988).

As proantocianidinas ou taninos condensados são derivados estruturais dos flavan-3-óis e consoante o número de vezes que esta unidade se repete, assim as proantocianidinas podem ser diméricas, triméricas, oligoméricas (até 6 unidades) ou poliméricas (superior a 6 unidades).

Estes compostos têm a propriedade de se decomporem em meio ácido com aquecimento, originando antocianidinas (cianidina e delphinidina) mediante a ruptura das ligações entre as unidades monoméricas, de acordo com o mecanismo descrito na literatura (Bate-Smith, 1954a) (figura 3).

Assim, de acordo com a natureza da unidade fundamental, as proantocianidinas podem dividir-se em dois grupos: as procianidinas que são polímeros da catequina e epicatequina, e as prodelfinidinas que são constituídas por unidades de galhocatequinas e epigalhocatequinas.

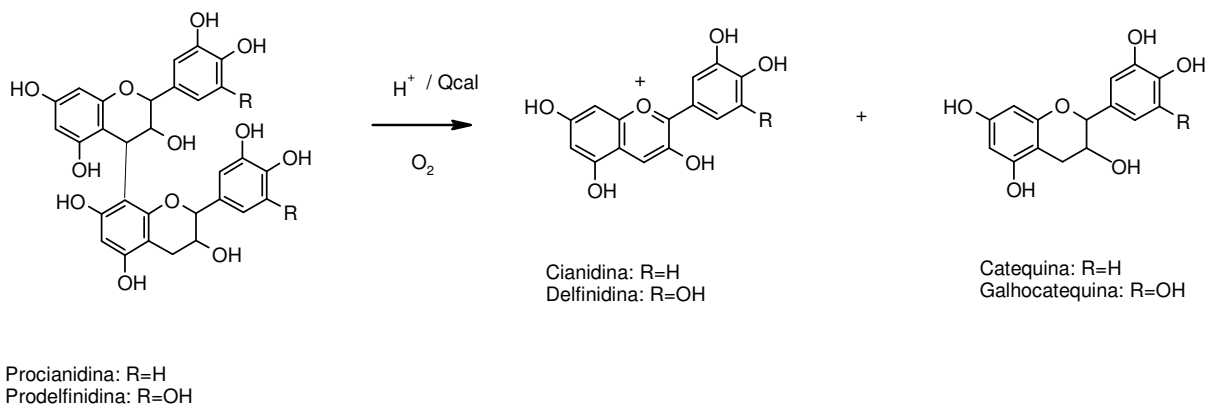


Figura 3. Decomposição das proantocianidinas por aquecimento e em meio ácido (Bate-Smith, 1954a).

A diversidade estrutural destes compostos presentes no vinho resulta do tipo de ligação interflavanólica, do grau de polimerização e do grau de esterificação com o ácido gálico.

O tipo de ligação entre as unidades monoméricas é designado por uma letra (A, B, C e D) e por um algarismo para identificar cada isómero dentro de cada um dos grupos (Weinges *et al.*, 1968; Thompson *et al.*, 1972).

As procianidinas diméricas do tipo B resultam da condensação de duas unidades flavanólicas (combinação de (+)-catequina e (-)-epicatequina) através de uma ligação entre o carbono 4 do monómero superior com o carbono 6 ou 8 da unidade inferior (figura 4).

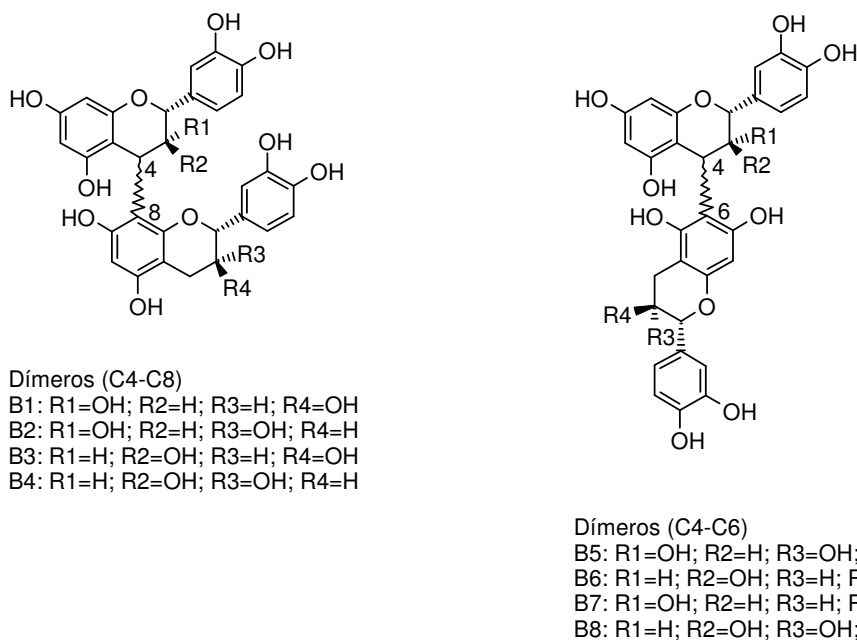


Figura 4. Estrutura das procianidinas diméricas do tipo B.

As procianidinas diméricas do tipo A, para além de apresentarem uma ligação interflavanólica do tipo B, possuem ainda uma ligação éter entre o carbono 2 do monómero superior e o grupo hidroxilo do carbono 5 ou 7 da unidade inferior (figura 5) (Salagoity-Auguste & Bertrand, 1984).

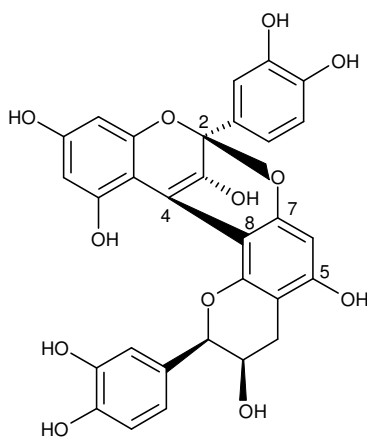


Figura 5. Estrutura da procianidina dimérica do tipo A2.

De igual modo, as procianidinas triméricas podem ser divididas em dois grupos: as procianidinas triméricas do tipo C, cujas ligações interflavanólicas são do tipo B (figura 6) e as procianidinas triméricas do tipo D, que possuem uma ligação interflavanólica do tipo B e outra do tipo A.

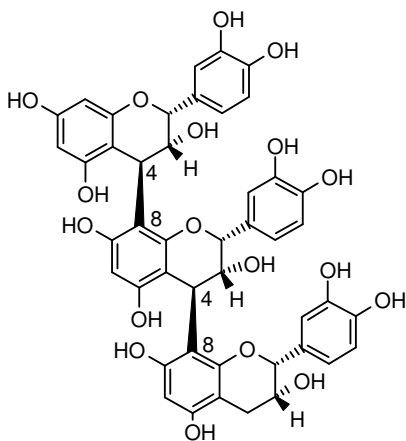


Figura 6. Estrutura da procianidina trimérica do tipo C1.

A maior parte das proantocianidinas existentes na natureza encontram-se de uma forma polimerizada, formando complexos moleculares de maiores dimensões (figura 7): oligômeros até seis unidades monoméricas de flavan-3-óis e polímeros com mais de seis unidades monoméricas (Haslam, 1998).

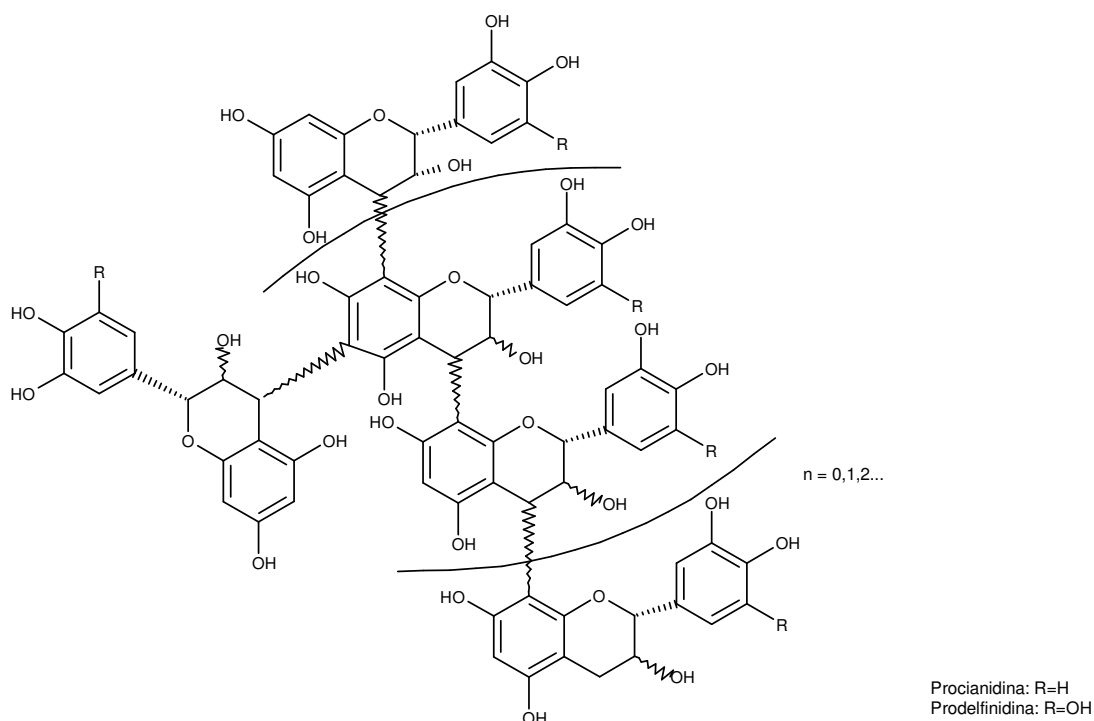


Figura 7. Esquema geral das proantocianidinas polimerizadas (Haslam, 1998).

As proantocianidinas das uvas e dos vinhos são principalmente procianidinas, ou seja oligômeros e polímeros de catequina e epicatequina unidas por ligações C₄-C₈ e em menor quantidade por ligações C₄-C₆ (Ricardo da Silva, 1995).

2.1.2. Estrutura e propriedades dos principais taninos nas plantas

Os taninos vegetais podem ser divididos em dois grandes grupos: os taninos condensados (proantocianidinas) e os taninos hidrolisáveis. Os primeiros assumem um importante papel ao nível das características gustativas dos vinhos uma vez que têm a capacidade de interagir com as proteínas salivares, formando complexos estáveis que provocam a diminuição da lubrificação do palato, causando uma sensação de secura e constrição, denominada por adstringência (Bate-Smith, 1973; Haslam & Lilley, 1988; Allen, 1994).

Estes compostos podem ainda actuar ao nível da cor devido à sua associação com as antocianinas durante a maturação dos vinhos (Michaud *et al.*, 1971; Czochanska *et al.*, 1979; Lee & Jaworki, 1989; Prieur *et al.*, 1994; de Freitas, 1995; Dallas *et al.*, 1996a, b; Moutounet *et al.*, 1996).

Os taninos hidrolisáveis são constituídos por uma molécula de açúcar ligada a um composto fenólico, principalmente o ácido gálico (taninos gálicos) ou o ácido elágico (taninos elágicos) (Barquette & Trione, 1998). Estes compostos não aparecem naturalmente nas uvas, sendo a sua presença no vinho de origem exógena como resultado de certas práticas vinícolas, tais como a utilização de barricas, cuja madeira é rica em taninos hidrolisáveis.

2.1.3. Antocianinas

As antocianinas são pigmentos naturais responsáveis por uma vasta gama de cores em vegetais, frutas e outros produtos derivados, tal como o vinho tinto (Heredia *et al.*, 1998). Estruturalmente são glicósidos do catião flavílio (figura 8), polihidroxilados e/ou metoxilados nos anéis A e B.

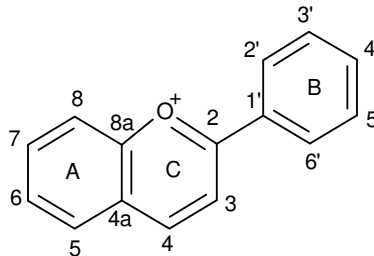
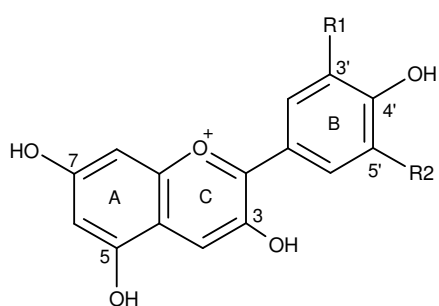


Figura 8. Estrutura do catião flavílio.

As antocianinas diferem entre si pelo número, natureza e posição dos açúcares ligados à molécula e pelo número e natureza das cadeias alifáticas ou aromáticas esterificadas com os açúcares (Guerra, 1997).

As suas formas agliconas (sem resíduo de glicose), denominadas antocianidinas diferem entre si pelo número e posição de grupos hidroxilo e metoxilo ligados aos anéis A e B.

A delfinidina, a cianidina, a petunidina, a peonidina e a malvidina são as formas agliconas correspondentes às antocianinas presentes na espécie *Vitis vinifera* (figura 9).



Antocianidina	R ₁	R ₂
Pelargonidina	H	H
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Petunidina	OCH ₃	OH
Peonidina	OCH ₃	H
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Figura 9. Estrutura das agliconas das principais antocianinas presentes nas espécies *Vitis vinifera*.

Para o género *Vitis* a glicosilação ocorre na posição O-3 conferindo uma maior solubilidade e estabilidade a estes pigmentos, sendo as formas agliconas pouco estáveis em água e muito menos solúveis (Timberlake & Bridle, 1966).

Os fragmentos glicosídicos podem apresentar-se livres ou esterificados na posição 6 com alguns ácidos, nomeadamente o ácido acético, o ácido *p*-cumárico e o ácido cafeico (figura 10).

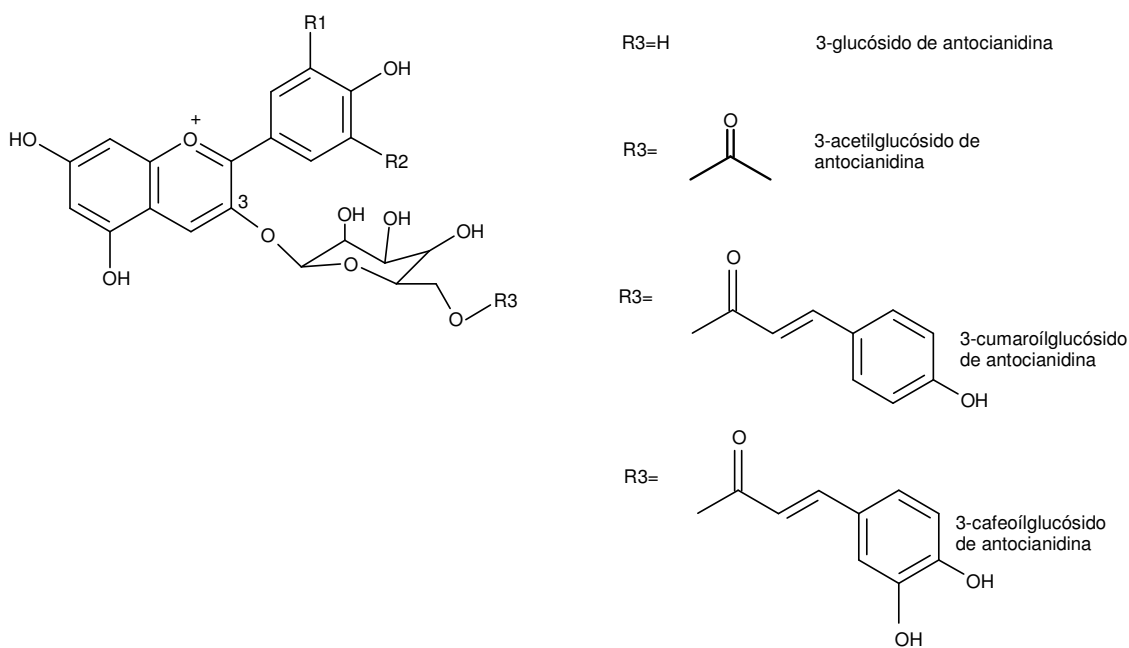


Figura 10. Estrutura das antocianidinas 3-monoglucosídicas e respectivos ésteres acilados.

2.1.3.1. Equilíbrio das antocianinas em solução

A cor que as antocianinas exibem em solução varia consoante as condições físico-químicas do meio e as estruturas químicas. Em geral, a hidroxilação induz um aumento do comprimento de onda máximo (deslocamento batocrômico), enquanto que a metilação dos grupos hidroxilo reverte esta tendência (Brouillard, 1983).

O pH é um dos factores do meio que faz variar a estrutura das antocianinas em equilíbrio na solução, alterando a sua coloração (Brouillard & Lang, 1990). A pH inferior a 1, as antocianinas encontram-se maioritariamente na forma de catião flavílio (AH^+). Em meio aquoso e a partir de pH 2, o catião flavílio sofre ataque nucleófilo por parte da água, formando-se a base carbinol incolor (B) em equilíbrio com a chalcona de cor amarela (C). A proporção de catião flavílio diminui bruscamente, traduzindo-se numa diminuição importante da cor vermelha. A pH entre 3 e 4, existe predominantemente a forma de base carbinol (B). A pH neutro ou alcalino ocorre uma desprotonação rápida do catião flavílio originando a base quinonoidal violeta (A) (figura 11).

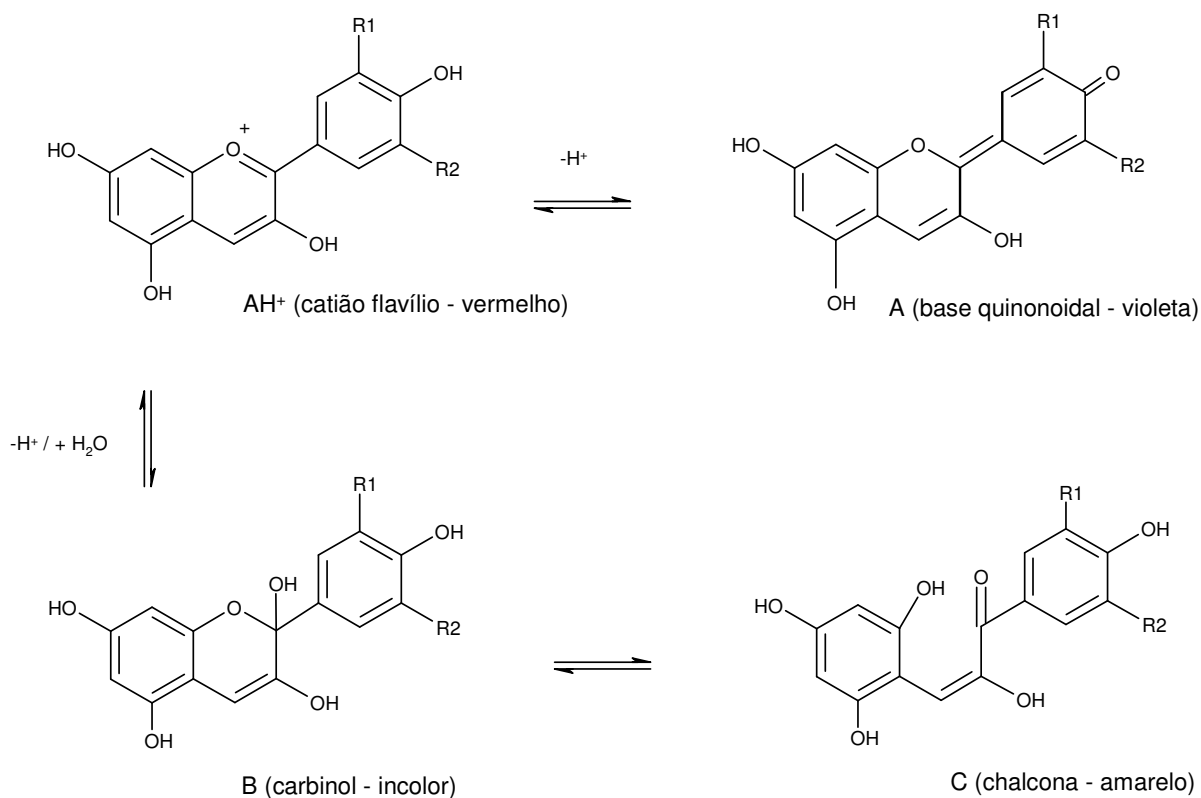


Figura 11. Formas de equilíbrio das antocianinas em solução.

2.1.3.2. Copigmentação

Para além do pH, as interacções moleculares das antocianinas com outros compostos afectam a sua estabilidade, contribuindo desta forma para a enorme variedade de cores que estes pigmentos exibem (Heredia *et al.*, 1998).

A copigmentação consiste numa interacção molecular por ligações de hidrogénio e interacções hidrofóbicas entre as antocianinas e outras moléculas (não coradas) que actuam como copigmentos (Davies & Mazza, 1993), resultando numa intensificação da cor (efeito hiperocrómico) que poderá ser acompanhada por um deslocamento do comprimento de onda máximo para valores superiores (efeito batocrómico).

Os copigmentos incluem uma grande variedade de compostos tais como flavonóides (em particular os flavanóis), ácido fenólicos, alcalóides, aminoácidos e ácidos orgânicos.

2.1.3.3. Reacção das antocianinas com o bissulfito

O dióxido de enxofre (SO₂) é largamente utilizado na produção dos vinhos, actuando como antioxidante e como inibidor do crescimento de agentes microbiológicos. No entanto, o SO₂ descolora as antocianinas formando compostos estáveis e incolores (figura 12) (Timberlake & Bridle, 1966).

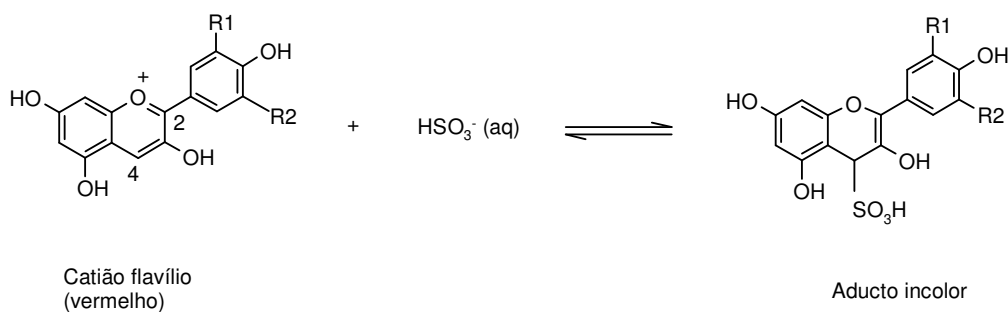
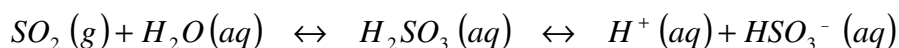


Figura 12. Equação química que traduz a reacção do bissulfito com as antocianinas.

O dióxido de enxofre (SO₂) em solução aquosa dá origem ao anião bissulfito (HSO₃⁻) que se liga rapidamente ao carbono 4 do catião flavílio de um modo reversível, originando um aducto incolor. O bissulfito pode também ligar-se à posição 2 da antocianina resultando igualmente numa estrutura sem cor.

As constantes de equilíbrio desta reacção são elevadas, indicando que quantidades pequenas de SO₂ podem descorar grandes quantidades de antocianinas (Timberlake & Bridle, 1966).

Acidificando o meio, o equilíbrio desloca-se no sentido de formação do catião flavílio e a solução volta a adquirir a cor vermelha.

3. Transformações químicas dos compostos fenólicos nos vinhos

O vinho tinto, devido à sua complexidade e diversidade química constitui um excelente modelo de estudo da reactividade entre diferentes compostos fenólicos. Durante a maturação e o envelhecimento dos vinhos, os compostos fenólicos, nomeadamente as antocianinas e os flavan-3-óis, estão sujeitos a diversas transformações químicas devido a reacções de oxidação-redução, condensação, polimerização e complexação com outros compostos tais como as proteínas, os polissacáridos ou os metais (Haslam, 1980; Ricardo da Silva *et al.*, 1991a).

Deste modo, as antocianinas e os taninos vão sendo progressivamente transformados em pigmentos oligoméricos e poliméricos mais estáveis e com características físico-químicas distintas dos seus precursores contribuindo desta forma para a alteração das características organolépticas como a cor e o sabor do vinho (Monagas *et al.*, 2005).

Têm sido propostos diferentes mecanismos para a formação destes pigmentos. Para além da reacção de condensação directa antocianina-flavanol (Somers, 1971) ou mediada pelo acetaldeído (Timberlake & Bridle, 1976b), também ocorrem reacções de condensação das antocianinas e/ou flavanóis com moléculas mais pequenas tais como o ácido pirúvico, levando à formação de piranoantocianinas (Bakker & Timberlaker, 1997; Fulcrand *et al.*, 1996; Mateus *et al.*, 2002; Monagas *et al.*, 2003b; Schwarz *et al.*, 2003).

Para além do acetaldeído, podem também ocorrer reacções entre as antocianinas e os flavanóis mediadas por outros aldeídos que existem nos vinhos tais como o formaldeído, o

propionadeído, o isobutiraldeído, o furfural, o hidroximetilfurfural, o benzaldeído e o isovaleraldeído, formando aductos corados (Es-Safi *et al.*, 2002a; Pissarra *et al.*, 2003; Pissarra *et al.*, 2004a).

Assim, é possível verificar que as reacções a que as antocianinas e os flavanóis estão sujeitos podem levar a modificações consideráveis que se reflectem nas características dos vinhos, nomeadamente na cor. Estas transformações químicas conduzem, numa primeira fase a um aumento da intensidade corante dos vinhos e a uma alteração da tonalidade, de vermelho vivo a vermelho violeta correspondendo aos aductos antocianina-etil-flavanol (Somers, 1971; Francia-Aricha *et al.*, 1997). Durante o envelhecimento outras reacções de oxidação e polimerização são responsáveis pela cor vermelho-alaranjada (Somers, 1971; Timberlake & Bridle, 1976b; Pissarra *et al.*, 2003). Para além desta alteração da cor, os vinhos tornam-se menos adstringentes durante o envelhecimento já que, para além de haver uma menor quantidade de proantocianidinas, as que permanecem no meio, por estarem polimerizadas, têm menor capacidade de reagir com as glicoproteínas da saliva, diminuindo desta forma a sensação de adstringência.

A concentração em antocianinas, copigmentos, acetaldeído e outros metabolitos das leveduras, assim como o pH, a temperatura e a presença de luz, de oxigénio e de dióxido de enxofre são factores que afectam a ocorrência destas reacções químicas durante o envelhecimento dos vinhos (Dallas *et al.*, 1995; Somers & Evans, 1986; Romero & Bakker, 1999; Romero & Bakker, 2000).

Neste complexo processo de evolução da cor é de realçar a importância de aldeídos como o acetaldeído e outros, cuja presença no vinho se deve a uma série de factores: são subprodutos da fermentação e produtos da oxidação do etanol e álcoois superiores (Wildenradt & Singleton, 1974).

Por outro lado, e ao longo da sua evolução e maturação em garrafa, pressupõe-se que o vinho poderá extrair da rolha de cortiça uma série de compostos que incluem taninos, ácidos fenólicos e aldeídos. Entre os vários compostos extraídos, os aldeídos poderão ocupar uma posição de destaque uma vez que participam activamente numa série de reacções que envolvem os constituintes do vinho (especialmente antocianinas e flavanóis), como já foi referido anteriormente. Estas reacções poderão resultar na formação de novos

compostos com características distintas, o que resulta na alteração das propriedades físico-químicas e organolépticas dos vinhos.

Este último facto realça a importância da cortiça na área vinícola, uma vez que a sua composição química pode condicionar várias propriedades apresentadas pelos vinhos, nomeadamente a sua cor e aroma (Varea *et al.*, 2001).

4. Utilização e importância da cortiça em enologia

A cortiça é a casca do sobreiro (*Quercus Suber L*), uma árvore nobre com características muito especiais que cresce nas regiões mediterrânicas como Espanha, Itália, França, Marrocos, Argélia e sobretudo em Portugal, onde existem cerca de 720 mil hectares de montado de sobreiro, responsável pela produção de mais de 50% da cortiça consumida em todo o mundo. Predominantemente arborizado pela espécie *Quercus*, o montado apresenta grandes extensões de azinheiras (*Quercus Retundifolia*), pequenas áreas de carvalho negral (*Quercus Pyrenaica*) e sobretudo de sobreiros. É uma árvore de grande longevidade e com uma enorme capacidade de regeneração. Consegue viver em média 150 a 200 anos apesar dos muitos descortiçamentos que lhe fazem ao longo da sua existência: cerca de 16 intercalados por períodos de nove anos.

O ciclo de vida da cortiça enquanto matéria-prima começa com a extracção da casca aos sobreiros, o chamado descortiçamento e que se realiza durante a fase mais activa do crescimento da cortiça, entre meados de Maio ou princípios de Junho até ao fim de Agosto. Neste primeiro descortiçamento, a chamada desbóia e que ocorre normalmente quando a árvore atinge entre 25 e 30 anos, obtém-se uma cortiça de estrutura muito irregular e com uma dureza que se torna difícil de trabalhar. É a chamada cortiça virgem que será utilizada noutras aplicações que não a enológica (pavimentos, isolamentos, etc) pois está longe de apresentar a qualidade necessária para esse fim. Nove anos depois, no segundo descortiçamento, obtém-se um material com uma estrutura regular, menos duro, mas ainda impróprio para o fabrico de rolhas e que se designa por cortiça secundeira. É só no terceiro descortiçamento e nos seguintes, que se obtém a cortiça com as propriedades adequadas para a produção de rolhas de qualidade, uma vez que já apresenta uma estrutura regular com costas e barriga lisas. É a chamada cortiça amadia ou de reprodução. A partir

desta altura o sobreiro fornecerá, de nove em nove anos, cortiça de boa qualidade durante cerca de século e meio produzindo em média, 15 a 16 descortiçamentos durante toda a sua vida.

O sobreiro é a única espécie florestal do mundo produtora de cortiça com capacidade para utilização industrial, pois todas as outras produzem cortiça (ou tecido suberoso) mas com características completamente diferentes.

O segredo do desempenho da matéria-prima cortiça está na sua estrutura celular e composição química. O interior da cortiça é composto por uma estrutura alveolar de pequenas células de suberina, preenchidas por uma mistura gasosa quase idêntica à do ar. Cada centímetro cúbico de cortiça contém em média 40 milhões de células, dispostas em fiadas perpendiculares ao tronco do sobreiro, existindo numa rolha de cortiça cerca de 800 milhões de células.

O tecido celular que constitui a cortiça é formado por células poliédricas em camadas sucessivas. É um tecido sem vida, uma vez que o conteúdo celular é consumido no processo de crescimento e posterior suberificação. As células encerram no seu interior uma quantidade mínima de cristais de cerina e de material amorfo aderido às paredes, e uma grande quantidade de gás. Cada célula tem o formato de um prisma pentagonal ou hexagonal, cuja altura não ultrapassa os 40 a 50 μm (figura 13).

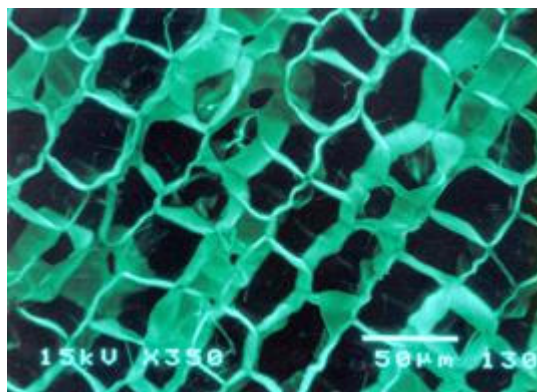


Figura 13. Células da cortiça (adaptado do site da Associação Portuguesa de Cortiça - APCOR).

As suas propriedades são inúmeras, destacando-se entre elas as seguintes:

- leveza (contém cerca de 90% de um gás similar ao ar encerrado em células impermeáveis) que lhe confere fluutuabilidade;
- flexibilidade, elasticidade (permite a expansão e contracção causada por variações de temperatura durante o armazenamento) e compressibilidade (poder de readquirir a forma primitiva, depois de ter sofrido uma pressão – o único sólido que não sofre dilatação lateral);
- impermeabilidade (a gases e líquidos) que se deve à presença de suberina;
- eficiência isoladora do ponto de vista acústico, térmico e vibracional, que se deve ao facto de o ar se encontrar encerrado em minúsculos compartimentos estanques, isolados por um material de baixa densidade e não higroscópico;
- resistência ao desgaste – resistência ao atrito e elevado coeficiente de fricção;
- é inócua para a saúde (não absorve poeiras), inodora, conserva a sua eficiência indefinidamente, é um retardador de combustão e pode considerar-se imputrescível e inalterável.

Para além disso, é uma matéria-prima renovável e um produto 100% natural, reciclável e biodegradável, três atributos imprescindíveis numa sociedade como a actual que se deseja cada vez menos poluída e amiga do ambiente (adaptado do site da Associação Portuguesa de Cortiça - APCOR).

4.1. Tipos de vedantes de cortiça

A vedação de um vinho, se prolongada no tempo promove a sua maturação, ou seja, o seu envelhecimento nobre através de inúmeros processos físico-químicos que ocorrem, quer entre os seus componentes, quer entre estes e as substâncias que compõem o ambiente interno da garrafa. Esta evolução gradual do vinho em garrafa dá-se num ambiente com baixíssimo teor de oxigénio, mas necessário e suficiente para fazer evoluir o vinho correctamente. No entanto, a escolha do vedante é determinante para esta evolução e deve ser feita em função do tipo de vinho e do período de estágio em garrafa.

As rolhas de cortiça podem ser classificadas em 7 categorias: rolha natural, natural colmatada, rolha técnica, natural multipeça, aglomerada, rolha de champanhe e capsulada. Das categorias existentes vai ser dada atenção às 3 primeiras uma vez que foram as rolhas de cortiça utilizadas neste estudo.

- Rolhas Naturais

As rolhas de cortiça natural são fabricadas por brocagem a partir de uma peça única de cortiça. Com a rolha natural é possível assegurar uma excelente conservação dos vinhos sem que exista interferência na harmonia dos seus componentes, conferindo um sinal de qualidade ao vinho. Além do mais, só o seu material natural é capaz de se adaptar correctamente às irregularidades internas do gargalo, garantindo uma perfeita vedação, mesmo que o vidro se dilate ou contraia, algo que pode acontecer com a alteração da temperatura ambiente durante o transporte ou armazenamento. Desde que a rolha seja de cortiça de elevada qualidade e as condições de armazenagem do vinho sejam ideais (temperatura, pressão e humidade adequadas e sem grandes amplitudes térmicas diárias e durante as estações do ano) pode-se esperar uma vedação perfeita ao longo de algumas dezenas de anos. Este tipo de vedante parece ser o mais adequado para os chamados vinhos de estágio, classificados para o envelhecimento em garrafa durante décadas (*e.g.* Vintages)

- Rolhas Naturais Colmatadas

As rolhas colmatadas são rolhas de cortiça natural com os poros (lenticelas) preenchidos exclusivamente com pó de cortiça resultante da rectificação das rolhas naturais. A colmatagem serve essencialmente para melhorar quer o aspecto visual da rolha, quer a sua performance.

- Rolhas Técnicas

As rolhas técnicas foram concebidas para engarrafar vinhos destinados a serem consumidos em geral, num prazo de 2 a 3 anos. São constituídas por um corpo de cortiça aglomerada muito denso com discos de cortiça natural colados no seu topo ou em ambos os topos. As rolhas técnicas com um disco em cada topo, são designadas rolhas técnicas

1+1. Com dois discos de cortiça natural, chamam-se rolhas técnicas 2+2, e com dois discos apenas num topo chamam-se rolhas técnicas 2+0.

Este tipo de rolha é quimicamente estável e mecanicamente muito resistente. Comportam-se de maneira exemplar em relação à torção a que são submetidas nas fases de engarrafamento e desarrolhamento. Além do mais, têm demonstrado serem excelentes vedantes ao longo do tempo conseguindo manter a necessária concentração de SO₂ livre na garrafa, evitando a oxidação prematura do vinho sem, contudo desenvolver aromas de redução desagradáveis.

4.2. Outros vedantes

Tradicionalmente, as rolhas de cortiça natural têm sido usadas para selar os vinhos. No entanto, o aparecimento de alguns problemas associados à utilização deste produto natural, nomeadamente os desvios sensoriais relacionados com o aroma/gosto a mofo no vinho causado pela contaminação por TCA (2,4,6-tricloroanisol) e a deterioração (desagregação) da cortiça e posterior perda do vinho, levou ao desenvolvimento de novas alternativas. Actualmente existem outras formas de selar os vinhos e incluem os vedantes sintéticos e os vedantes de rosca (*screw-cap*).

4.2.1. Vedantes sintéticos

Os vedantes sintéticos são produzidos a partir de um material de elevada qualidade, termoplástico e elastómero. Este material apresenta propriedades elásticas permitindo a expansão e a contracção dos vedantes.

Os vedantes sintéticos de primeira geração, introduzidos a partir de 1992, apesar de permitirem eliminar alguns dos problemas associados à utilização de rolhas de cortiça natural, apresentavam uma elevada permeabilidade ao oxigénio o que limitava a sua utilização a vinhos de elevada rotação. Devido à elevada taxa de ingresso de oxigénio, os vinhos engarrafados com estes vedantes rapidamente adquiriam aromas oxidados, encurtando os seus processos evolutivos e diminuindo o tempo de prateleira.

Mais recentemente, os novos vedantes sintéticos introduzidos no mercado apresentam uma reduzida permeabilidade ao oxigénio devido a um aperfeiçoamento técnico da estrutura celular interna. Devido à uniformidade do tamanho das células e à sua densidade é conseguida uma taxa óptima de ingresso de oxigénio, enquanto que a camada exterior elástica evita a perda de líquido. Este melhoramento permite a conservação do teor em SO₂ livre e das características sensoriais do vinho, permitindo um estágio em garrafa mais prolongado.

No entanto, a utilização destes vedantes acarreta alguns problemas. A sua composição e a relação estrutural entre a superfície exterior e o interior poroso são críticas para as características finais dos vedantes. O enrugamento da camada exterior pode levar ao aparecimento de fissuras entre o vedante e a garrafa podendo ocorrer vazamento do vinho. Para além disto, alguns vedantes sintéticos não recuperam rapidamente o seu tamanho normal após compressão, o que implica que as garrafas sejam mantidas na posição vertical por um período prolongado após o arrolhamento. Em alguns vinhos engarrafados com vedante sintéticos por períodos de tempo prolongados foi igualmente detectado gosto a plástico.

4.2.2. *Vedantes screw-cap*

Os vedantes *screw-cap* começaram a ser desenvolvidos na década de 70 na Nova Zelândia. São formados por uma cápsula de alumínio e por um revestimento, especialmente desenvolvido para permitir o contacto com o vinho. Estes revestimentos são formados por polietileno e PVDC (cloreto de polivinilideno) e de acordo com a sua composição conferem uma maior ou menor permeabilidade aos gases. Tal como acontece para os vedantes sintéticos, estes vedantes também eliminam alguns dos problemas associados com a utilização das rolhas de cortiça para além de que favorecem um envelhecimento mais lento, mantendo os aromas originais do vinho durante mais tempo uma vez que a entrada de oxigénio para o vinho ocorre mais lentamente.

Por outro lado e dependendo do tipo de revestimento usado, em certos vedantes a permeabilidade aos gases poderá ser demasiado reduzida, não permitindo a entrada de oxigénio essencial para os processos evolutivos do vinho, levando ao aparecimento de aromas reduzidos desagradáveis.

O vinho e a cortiça são dois produtos que há muito se complementam. De facto, e apesar da concorrência dos vedantes sintéticos e *screw-cap*, a rolha de cortiça é a única que parece ter uma relação com o vinho que vai além da simples vedação. A estrutura alveolar das células de cortiça, a composição do gás existente no seu interior, a composição química da cortiça, a estanquicidade e a impermeabilidade a líquidos e gases (prevenindo a oxidação do vinho) e capacidade de aderência a superfícies de vidro assegurada pela rolha de cortiça, potenciam a criação de equilíbrios estáveis, contribuindo de uma forma harmónica e suave para os fenómenos evolutivos dos vinhos (Jung & Hamatscheck, 1992).

5. Composição química da cortiça

A composição química da cortiça não é ainda totalmente conhecida. Diferentes autores apresentaram uma ampla variação de valores devido ao uso de diferentes amostras de cortiça. De facto, a constituição química deste material natural depende de vários factores tais como a origem geográfica, as condições de solo e clima, a origem genética, a dimensão e idade da árvore, condições de crescimento, entre outros (Pereira, 1988; Conde *et al.*, 1998; Conde *et al.*, 1999).

O tecido suberoso é constituído por componentes estruturais (aproximadamente 85% da sua massa seca) e por constituintes não estruturais.

Os constituintes estruturais são moléculas de elevado peso molecular e constituem a base física das paredes celulares. Só são removíveis após reacções químicas que os transformam em unidades mais pequenas, permitindo assim que se tornem solúveis e desse modo sejam extraídos.

Incluem três conjuntos poliméricos: polissacárido, polifenólico e poliéster alifático. Os polissacáridos incluem a celulose e a hemicelulose, os polifenóis incluem a lenhina e polímeros afins enquanto que os poliésteres alifáticos correspondem à suberina.

Do ponto de vista quantitativo, a suberina constitui cerca de 50% da massa das paredes celulares, a lenhina e associados 30% e os polissacáridos 10% (Conde *et al.*, 1998).

De facto, a suberina é o principal constituinte estrutural da cortiça. É uma estrutura polimérica extensa, assegurada por ligações éster entre os seus monómeros (polímero de

poliéster) (figura 14). Existem basicamente três tipos de monómeros na suberina: o glicerol, os monómeros alifáticos ácidos de cadeia longa e os compostos aromáticos (normalmente fenólicos, dos quais o ácido ferúlico é o mais importante). A suberina constitui uma barreira protectora, impedindo a passagem de água e de gases (Carvalho, 1987).

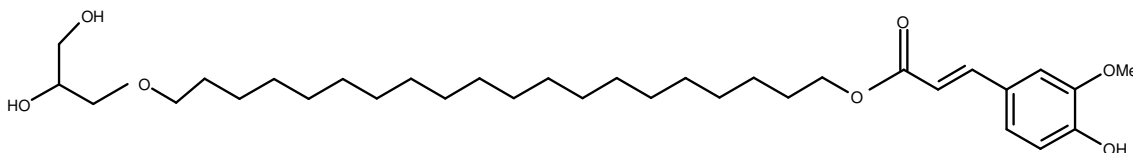
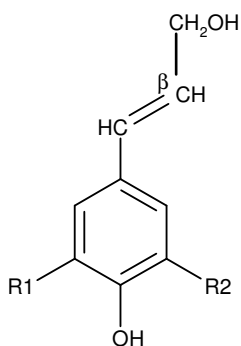


Figura 14. Suberina: éster glicerol- ω -hidroxiácido-ácido ferúlico.

A lenhina é um heteropolímero de natureza fenólica formado pela polimerização de três álcoois: álcool cumarófico, álcool coniferílico (ou guaiacilo) e álcool sinapílico (ou siringilo) (figura 15). Cada tipo de unidade pode formar vários tipos de ligação diferentes do tipo C-C e C-O-C com outras unidades, das quais a mais abundante é a alquil-aril-éter- β -O-4 (Boerjan *et al.*, 2003). Estes polímeros apresentam uma grande heterogeneidade dada a variedade de monómeros e das respectivas ligações. Além disso, as unidades de álcool são capazes de formar ligações com outros polímeros das paredes celulares, interligando polissacáridos e proteínas com a lenhina numa rede tridimensional muito complexa (Whetten *et al.*, 1998).



Álcool	R ₁	R ₂
Cumarófico	H	H
Coniferílico	OCH ₃	H
Sinapílico	OCH ₃	OCH ₃

Figura 15. Unidade base da estrutura da lenhina.

Os polissacáridos são componentes das paredes das células que ajudam a definir a textura da cortiça. A celulose é um homopolímero linear de elevada massa molecular constituído exclusivamente por unidades de β -D-glucopiranosose.

A hemicelulose é um heteropolissacárido constituído por polissacáridos complexos, cujas unidades básicas são hexoses (glucose, manose, galactose) e pentoses (xilose, arabinose), podendo também existir ácidos urónicos (glucurónico, metilglucurónico e galacturónico) (Haluk & Irmouli, 1998).

Os componentes não estruturais da cortiça são moléculas pequenas, fáceis de remover por simples dissolução em solventes, sendo por isso designados por compostos extractíveis. Constituem um grupo muito variado, pertencendo a diferentes famílias químicas. Um grupo dos extractivos é constituído pelos restos da actividade metabólica das células e incluem os açúcares simples e porções dos próprios polímeros estruturais. O outro grupo de compostos é resultado do metabolismo secundário das plantas e inclui compostos do grupo dos taninos (condensados e hidrolisáveis), normalmente com funções fito-tóxicas, e do grupo dos triterpenos, envolvidos no reforço das propriedades de impermeabilidade das células (Sousa *et al.*, 2006).

Dentro da fracção extractível da cortiça, os compostos fenólicos são de destacar uma vez que podem influenciar as características organolépticas (cor, aroma e sabor) dos vinhos que entram em contacto com a cortiça (Conde *et al.*, 1998).

Estes compostos de baixo peso molecular podem ser formados por processos de ruptura da lenhina e da suberina durante o processo industrial de produção das rolhas (Cabral & Gil, 1988; García-Vallejo *et al.*, 1997; Kirk *et al.*, 1978).

6. Extração de compostos fenólicos da cortiça

Diversos estudos demonstraram que alguns componentes não estruturais da cortiça podem ser extraídos quando esta é macerada em solução hidroalcoólica (Conde *et al.*, 1998). Por exemplo, os compostos fenólicos e mais propriamente os ácidos e os aldeídos fenólicos podem migrar para os vinhos após o seu engarrafamento, podendo ser responsáveis por odores e sabores ou podendo ainda ser precursores de outros compostos (Mazzoleni *et al.*, 1994). Os taninos hidrolisáveis também podem afectar sensorialmente os vinhos, podendo

formar complexos com as antocianinas influenciando a cor e ainda modificar a adstringência dos mesmos (Singleton & Trousdale, 1992). Esta influência pode ocorrer de forma directa ou indirecta, através de interacções químicas e físicas com outros constituintes, afectando o pH, a disponibilidade de O₂ e a solubilidade de alguns compostos voláteis (Nishimura & Matsuyama, 1989; Piggot *et al.*, 1992; Conner *et al.*, 1994; Conner *et al.*, 1999b).

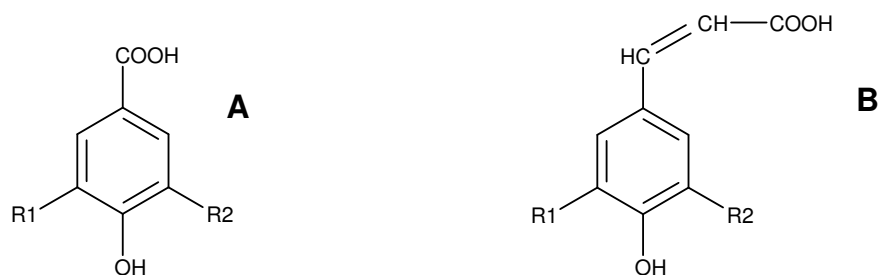
Dos compostos fenólicos extractíveis da cortiça, Conde *et al.*, (1997) identificou ácidos fenólicos (gálico, protocatechuico, vanílico, cafeico, ferúlico e elágico), aldeídos fenólicos (protocatechuico, vanilina, coniferaldeído e sinapaldeído) e cumarinas (esculetina e escopoletina). Quanto à fracção constituída pelos taninos, Cadahía *et al.*, (1996) identificou os taninos elagitaninos roburina A e E, grandinina, vescalagina e castalagina entre outros elagitaninos com estruturas derivadas.

6.1. Caracterização de alguns compostos fenólicos extraídos da cortiça

6.1.1. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos podem ser divididos em ácidos benzóicos e em ácidos cinâmicos de acordo com o número de átomos de carbono (figura 16).

Os ácidos fenólicos não influenciam directamente as características organolépticas dos vinhos mas são importantes uma vez que são responsáveis pelo aparecimento de fenóis voláteis, substâncias com cheiro a couro e a estrepéria e com um limite de detecção baixo ($< 0,2 \text{ mg.L}^{-1}$). A formação destas substâncias poderá causar alterações aromáticas dos vinhos (Chatonnet *et al.*, 1990; Singleton, 1995).



Ácidos benzóicos (A)	R ₁	R ₂
Gálhico	OH	OH
Vanílico	OCH ₃	H
Siríngico	OCH ₃	OCH ₃
Ácidos cinâmicos (B)		
<i>p</i> -Cumárico	H	H
Ferúlico	OCH ₃	H
Cafeico	OH	H

Figura 16. Estrutura dos ácidos fenólicos (A - ácidos benzóicos; B - ácidos cinâmicos).

6.1.2. Aldeídos fenólicos

Os aldeídos fenólicos podem ser classificados segundo dois critérios: pelo número de átomos de carbono em benzóicos (C_6-C_1) e em cinâmicos (C_6-C_3), ou pelo número de grupos metoxilo em guaiacilo (monometoxilados) e em siringilo (bimetoxilados) (figura 17). Podem encontrar-se na forma livre e ligados aos constituintes da parede celular, designadamente à lenhina.



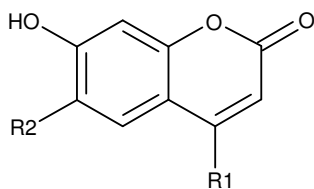
Aldeídos benzóicos (A)	R ₁	R ₂
Vanilina	OCH ₃	H
Siringaldeído	OCH ₃	OCH ₃
Aldeídos cinâmicos (B)		
Coniferaldeído	OCH ₃	H
Sinapaldeído	OCH ₃	OCH ₃

Figura 17. Estrutura dos aldeídos fenólicos (A - aldeídos benzóicos; B - aldeídos cinâmicos).

A vanilina e o siringaldeído contribuem directamente para o aroma típico de vinhos envelhecidos em madeira (Chatonnet *et al.*, 1992).

6.1.3. Cumarinas

As cumarinas são benzo- α -pironas substituídas, com estrutura carbonada do tipo C_6-C_3 (figura 18). Formam-se a partir dos ácidos cinâmicos por ciclização da sua cadeia lateral: a umbeliferona derivado do ácido *p*-cumárico, a escopoletina deriva do ácido ferúlico e a esculetina é proveniente do ácido cafeico. A distribuição das cumarinas na natureza é muito limitada, encontrando-se normalmente na forma de heterósidos (Ribéreau-Gayon, 1968).



Cumarinas	R ₁	R ₂
Umbeliferona	H	H
β-Metilumbeliferona	OCH ₃	H
Escopoletina	H	OCH ₃
Esculetina	H	OH

Figura 18. Estrutura das cumarinas.

6.1.4. Taninos hidrolisáveis

Quanto à fracção constituída pelos taninos, os taninos hidrolisáveis são os mais abundantes. São constituídos por uma molécula de açúcar, normalmente D-glucose, esterificada com ácido gálgico ou com ácido hexahidroxidifenílico (Barquette & Trione, 1998). Estes compostos são facilmente hidrolisáveis por via enzimática ou em condições ácidas ou básicas, dando origem a ácido gálgico (galhotaninos) ou ácido elágico (elagitaninos) (figura 19).

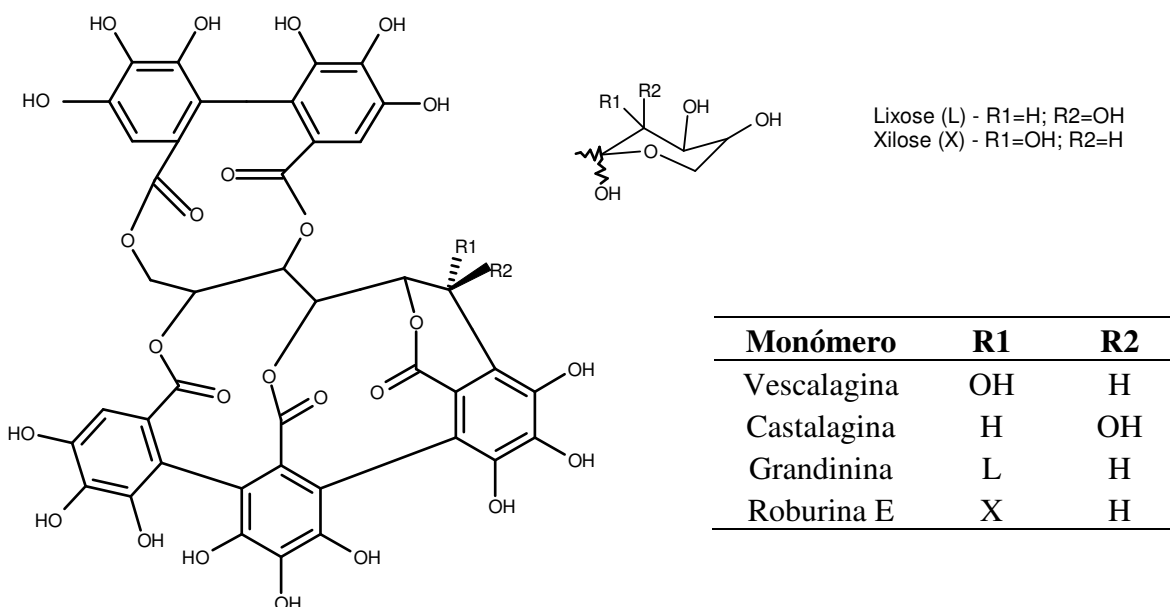


Figura 19. Estrutura de taninos hidrolisáveis (elágicos)

7. Envelhecimento do vinho em garrafa

Durante o envelhecimento e maturação de um vinho, a sua cor e os seus aromas originais modificam-se. Estas alterações são em grande parte resultado de reacções que ocorrem no vinho durante o seu envelhecimento.

A deterioração oxidativa dos vinhos engarrafados difere do processo de envelhecimento por ser consequência de reacções promovidas pelo oxigénio. Estas reacções originam alterações na cor, aroma e sabor diferentes das que ocorrem durante a maturação de um vinho. Por esta razão, a escolha da rolha em função do vinho e da garrafa e as boas condições durante a fase de engarrafamento e posterior armazenamento, são imprescindíveis para a criação de equilíbrios estáveis que propiciem a evolução dos vinhos engarrafados em vez da oxidação dos mesmos (Skouroumounis *et al.*, 2005).

O contacto entre o vinho e o oxigénio é crítico para a sua maturação em garrafa. Actualmente, é reconhecido que a qualidade de um vinho é prejudicada por uma exposição excessiva ao oxigénio, mas uma contínua e lenta oxigenação poderá ser benéfica para a evolução do mesmo, particularmente nas fases iniciais de maturação (Singleton *et al.*, 1979; Ribéreau-Gayon *et al.*, 1983; Castelari *et al.*, 2002; Atanasova *et al.*, 2002).

A oxigenação moderada poderá ser positiva uma vez que as reacções oxidativas a que os compostos fenólicos estão sujeitos podem realçar a cor e a reduzir a adstringência (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1983; Castelari *et al.*, 2002; Moutounet & Mazauric, 2000). Por outro lado, uma exposição excessiva ao oxigénio poderá levar ao aparecimento de alguns aromas aldeídicos indesejáveis e a um acastanhamento da cor (Singleton *et al.*, 1979; Escudero *et al.*, 2002) para além de que poderá provocar um aceleração da maturação dos vinhos.

Os compostos envolvidos nos processos oxidativos incluem o oxigénio (iniciador do processo), os compostos fenólicos (substratos oxidáveis que presumivelmente são os precursores de pigmentos formados durante as reacções de acastanhamento) e os iões metálicos como o Fe^{3+} , o Cu^{2+} e o Mn^{2+} , que actuam como catalisadores. Outros factores com a temperatura, o pH e a luz também podem contribuir para estas reacções (Macias *et al.*, 2001; Silva Ferreira *et al.*, 2002).

A difusão do oxigénio é um dos factores que mais contribui para o nível de oxigénio dissolvido e é dependente do tipo de vedante usado para selar um vinho engarrafado

(Godden *et al.*, 2005). Por sua vez, a diferente capacidade evidenciada por cada vedante para actuar como barreira ao oxigénio, está relacionada com o potencial de envelhecimento do vinho em garrafa (Lopes *et al.*, 2006).

Para além da permeabilidade evidenciada por cada vedante ao oxigénio, muitos outros factores poderão contribuir para a evolução do vinho (reduativa ou oxidativa). A composição inicial do vinho, a altura de enchimento do vinho, a concentração de dióxido de enxofre livre na altura do engarrafamento, a composição do gás no headspace, as condições da linha de engarrafamento, a temperatura e a humidade do local de armazenamento são outros factores que contribuem para a sua evolução (Lopes *et al.*, 2006).

7.1. Efeito dos vedantes no vinho

O aparecimento de vedantes alternativos fez aumentar o interesse na compreensão do impacto dos diferentes vedantes no desenvolvimento do vinho. Estudos efectuados revelaram que os vedantes sintéticos possuem uma maior permeabilidade ao oxigénio enquanto que os vedantes *screw-cap* são muito pouco permeáveis, originando vinhos pouco oxidados. Os vedantes naturais de cortiça ocupam uma posição intermédia (Chatonnet *et al.*, 2000; Godden *et al.*, 2001; Mas *et al.*, 2002).

Alguns destes estudos demonstraram que a reduzida entrada de oxigénio nos vinhos engarrafados com *screw-cap* resulta em vinhos com baixos teores em aromas oxidados mas com aromas reduzidos indesejáveis (“struck flint”/“rubber”). Já os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos mostraram ser relativamente oxidados no aroma e com um menor teor em dióxido de enxofre quando comparados com vinhos selados com outros vedante (Skouroumounis *et al.*, 2005).

As propriedades intermédias das rolhas de cortiça geralmente resultam em vinhos equilibrados evitando-se a oxidação prematura do vinho sem contudo desenvolver aromas de redução desagradáveis. (Skouroumounis *et al.*, 2005).

Tanto nas rolhas de cortiça como nas rolhas sintéticas, existem trocas gasosas que evitam o aparecimento de tióis, compostos sulfurosos que acarretam maus cheiros. No caso dos vedantes *screw-cap*, a passagem de oxigénio que irá eliminar esses tióis e sulfuretos é praticamente inexistente, dando origem a maus odores nos vinhos, geralmente um ano depois de serem engarrafados (Skouroumounis *et al.*, 2005).

Verificou-se ainda que a utilização de vedantes sintéticos promove um acastanhamento da cor. Skouroumounis *et al.*, (2005) concluiu que 5 meses após o engarrafamento o aumento da absorvância a 420 nm (região dos amarelos/castanhos) seguia a ordem sintético > cortiça > *screw-cap*.

No que diz respeito aos parâmetros CIELab, o mesmo autor verificou que a utilização de diferentes vedantes condicionou o parâmetro L* (luminosidade) e o parâmetro b* (valores positivos relacionados com a tonalidade amarela). Vinhos mais claros (> L*) foram selados com vedantes *screw-cap* ou com cortiça, enquanto que os vinhos mais opacos (< L*) e com um valor de b* superior foram selados com vedantes sintéticos.

É de referir que o desenvolvimento destes aromas reduzidos nos vinhos pode não depender exclusivamente das propriedades de barreira ao oxigénio dos vedantes. É igualmente dependente da composição do vinho, da presença de precursores destes aromas nos vinhos e da existência de outros compostos que possam influenciar a percepção destes aromas específicos (Skouroumounis *et al.*, 2005).

A passagem de oxigénio para os vinhos através dos vedantes, para além de estar relacionado com as propriedades dos mesmos, pode resultar de factores físicos relacionados com o interface vedante/garrafa. A elasticidade da cortiça é muito maior do que a de um material sintético, conseguindo adaptar-se de forma correcta às irregularidades internas do gargalo, garantindo uma perfeita vedação mesmo que o vidro se dilate ou contraia, algo que pode acontecer com a alteração da temperatura ambiente durante o transporte ou armazenamento. No caso das rolhas sintéticas, basta haver um fornecimento de garrafas com diferenças milimétricas no gargalo, para que o engarrafamento total seja todo prejudicado, originando oxidações prematuras.

A posição de armazenamento é outra variável que poderá afectar o ingresso de oxigénio e consequentemente o desenvolvimento do vinho. Mas *et al.*, (2002) referiu que nos vinhos selados com cortiça eram melhor conservados quando as garrafas eram armazenadas horizontalmente do que verticalmente. Em contrapartida, Skouroumounis *et al.*, (2005) mostrou que a orientação da garrafa durante o armazenamento tem pouca influência na composição e propriedades sensoriais do vinho branco.

8. Impacto Económico

A cortiça é geradora de riqueza e um símbolo da economia nacional. Portugal é o maior produtor e exportador mundial de cortiça, exportando actualmente perto de 900 milhões de euros por ano em produtos. Em termos globais 60% das transacções de cortiça a nível mundial têm origem em Portugal, valor que sobe para cerca de 80% quando nos referimos a transacções de produtos já transformados.

A nível nacional, o valor das exportações portuguesas de cortiça representa cerca de 0,7 % do PIB (preços de mercado), 2,24 % do valor das exportações portuguesas e mais 33% do conjunto das exportações portuguesas de produtos florestais.

No entanto, apesar do domínio de Portugal no mercado mundial (produção e transformação) as exportações têm diminuído consecutivamente nos últimos 3 anos, retirando expressão a este sector da economia. Actualmente os vedantes sintéticos já ocupam aproximadamente 5% do mercado dos vedantes enquanto que se espera que nos próximos 5 anos os vedantes *screw-cap* possam ocupar cerca de 10% do mercado.

O desafio de se encontrarem novas aplicações para a cortiça precisa de ser precedido por um maior conhecimento das suas propriedades. Mesmo a sua aplicação tradicional em rolhas, precisa de ser melhor fundamentada cientificamente pois corre o risco de ser substituída por vedantes sintéticos ou por vedantes *screw-cap* no engarrafamento do vinho.

DESCRIÇÃO DO TRABALHO

Este trabalho incidiu no estudo do impacto da utilização de diferentes vedantes na composição polifenólica e nas propriedades antioxidantes de diferentes tipos de vinhos.

Pelo facto destes vedantes possuírem propriedades distintas, será de prever que induzam diferenças importantes durante a maturação dos vinhos a nível da sua composição polifenólica, nas suas características sensoriais, nomeadamente na cor e no sabor assim como nas suas propriedades antioxidantes.

Após a selecção de vinhos tintos com diferentes estados de maturação, procedeu-se ao seu arrolhamento com cortiça e com vedantes alternativos (matéria plástica e cápsula de roscas).

O primeiro grupo de amostras correspondia a vinhos do Porto tintos da colheita de 2003, engarrafados em 2005 com rolha de cortiça natural, vedante sintético (Sinteticor[®]) e *screw-cap*.

O segundo grupo de amostras correspondia a vinhos de mesa tintos da colheita de 1997 provenientes da Região Demarcada do Douro. Estes vinhos foram engarrafados com vedantes sintéticos com e sem tratamento de superfície (Supremecorq[®]) e com rolha de cortiça natural.

O terceiro conjunto de amostras compreendia vinhos produzidos na região de Bordéus (França) na colheita de 2005, tendo sido engarrafado com rolha de cortiça e com *screw-cap* em 2006. Estes vinhos foram analisados ao fim de dois períodos de engarrafamento distintos: 7 e 14 meses de engarrafamento.

O quarto grupo de amostras correspondia a vinhos de mesa tintos produzidos igualmente na colheita de 2005. Estes vinhos foram engarrafados com rolha de cortiça técnica, rolha de cortiça colmatada e com vedante sintético (Nomacorc[®]).

De seguida, procedeu-se à caracterização polifenólica de cada grupo de amostras, determinando parâmetros relacionados com a cor e com o sabor (adstringência e estrutura). Determinou-se ainda a capacidade antiradicalar e o poder redutor de alguns grupos de vinhos.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Identificação e caracterização das amostras

1.1. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante sintético vs screw-cap em vinhos tintos do Porto (colheita 2003)

Os vinhos tintos a estudar foram fornecidos por uma empresa da Região Demarcada do Douro que produziu os vinhos de acordo com o procedimento normal de elaboração dos vinhos do Porto. Foram fornecidas três marcas de vinho do Porto da colheita de 2003 designados pelas letras A, B e C. Os vinhos foram engarrafados em 2005, aproximadamente 2 anos após a sua vinificação com três tipos de vedantes (C-cortiça; S-sintético; W-screw-cap). Cada amostra foi analisada em duplicado, ao fim 2 anos de engarrafamento (tabela 1). Os vedantes sintéticos utilizados neste estudo foram fornecidos pela empresa Sintetitor[®], sendo formados por um co-polímero de etileno de baixa densidade e com propriedades elásticas.

Tabela 1. Identificação e códigos atribuídos aos vinhos do Porto (A, B e C) engarrafados com diferentes tipos de vedantes.

Vinhos	Identificação	Código
A	Rolha cortiça; repetição 1	AC1
	Rolha cortiça; repetição 2	AC2
	Vedante sintético; repetição 1	AS1
	Vedante sintético; repetição 2	AS2
	Vedante screw-cap; repetição 1	AW1
	Vedante screw-cap; repetição 2	AW2
B	Rolha cortiça; repetição 1	BC1
	Rolha cortiça; repetição 2	BC2
	Vedante sintético; repetição 1	BS1
	Vedante sintético; repetição 2	BS2
	Vedante screw-cap; repetição 1	BW1
	Vedante screw-cap; repetição 2	BW2
C	Rolha cortiça; repetição 1	CC1
	Rolha cortiça; repetição 2	CC2
	Vedante sintético; repetição 1	CS1
	Vedante sintético; repetição 2	CS2
	Vedante screw-cap; repetição 1	CW1
	Vedante screw-cap; repetição 2	CW2

1.2. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante sintético (com e sem tratamento de superfície) em vinhos tintos de mesa (colheita 1997)

Os vinhos analisados foram fornecidos por uma empresa de vinhos da Região Demarcada do Douro. Foram produzidos na colheita de 1997 de acordo com o procedimento normal de elaboração dos vinhos de mesa, tendo sido engarrafados em Maio de 1998. Cada amostra foi analisada em duplicado e ao fim de 8 anos de engarrafamento. As amostras foram identificadas com a letra D, seguida das letras T, S e C e pelos algarismos 1 e 2. A primeira letra (D) identifica o vinho, enquanto que a segunda letra, T, S e C identifica o tipo de vedante usado (vedante sintético com tratamento de superfície, vedante sintético sem tratamento de superfície e rolha de cortiça natural, respectivamente). Os algarismos finais correspondem ao número do replicado de cada amostra (tabela 2). Os vedantes sintéticos usados neste ensaio foram fornecidos pela empresa Supremecorq[®]. Estes vedantes são formados a partir de um material termoplástico e elastómero. A parafina foi o material usado para o tratamento de superfície.

Tabela 2. Identificação e códigos atribuídos ao vinho de mesa D engarrafado com diferentes tipos de vedantes.

Vinho	Identificação	Código
D	Vedante sintético com tratamento superfície; repetição 1	DT1
	Vedante sintético com tratamento superfície; repetição 2	DT2
	Vedante sintético sem tratamento superfície; repetição 1	DS1
	Vedante sintético sem tratamento superfície; repetição 2	DS2
	Rolha cortiça natural; repetição 1	DC1
	Rolha cortiça natural; repetição 2	DC2

1.3. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante screw-cap em vinhos tintos de mesa (colheita 2005)

Os vinhos analisados neste ensaio foram produzidos na região de Bordéus (França) na colheita de 2005. Foram engarrafados em Abril de 2006, aproximadamente 6 meses após a sua vinificação e analisados ao fim de 7 e 14 meses de engarrafamento. Os vinhos foram identificados com a letra E, seguida das letras C e W e dos algarismos 1 e 2. A primeira

letra (E) identifica o vinho, enquanto que a segunda letra, C e W identifica o tipo de vedante usado (rolha de cortiça natural e *screw-cap*, respectivamente). Os algarismos finais correspondem ao período de tempo ao fim do qual decorreu a análise (1; 7 meses; 2; 14 meses após o engarrafamento) (tabela 3).

Tabela 3. Identificação e códigos atribuídos ao vinho de mesa E engarrafado com diferentes tipos de vedantes.

Vinho	Identificação	Código
E	Rolha cortiça natural; Período tempo 1	EC1
	Vedante screw-cap; Período tempo 1	EW1
	Rolha cortiça natural; Período tempo 2	EC2
	Vedante screw-cap; Período tempo 2	EW2

1.4. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante sintético em vinhos tintos de mesa (colheita 2005)

Neste último ensaio, os vinhos analisados foram produzidos na colheita de 2005, tendo sido engarrafados em Setembro de 2006 e analisados ao fim de 9 meses de engarrafamento. Foram identificados com a letra F, seguida dos algarismos 1, 2 e 3 que identificam o tipo de vedante usado (rolha técnica 1+1; rolha natural colmatada e vedante sintético, respectivamente) (tabela 4). O vinho testemunho, codificado com o algarismo 0 não foi engarrafado, tendo permanecido armazenado em barrica até à sua análise.

As rolhas técnicas 1+1 utilizadas neste ensaio são constituídas por um aglomerado de cortiça muito denso com um disco de cortiça natural colado em cada topo. As rolhas naturais colmatadas são rolhas de cortiça cujos poros se encontram preenchidos com pó de cortiça. O vedante sintético utilizado para engarrafar o vinho F foi fornecido pela empresa Nonacorc[®]. É um polímero de última geração constituído por uma parte central formada por um polímero respirável e por uma camada exterior elástica.

Tabela 4. Identificação e códigos atribuídos ao vinho de mesa F engarrafado com diferentes tipos de vedantes.

Vinho	Identificação	Código
F	Rolha de cortiça técnica 1+1	F1
	Rolha de cortiça colmatada	F2
	Vedante sintético	F3
	Testemunho	F0

2. Características cromáticas

2.1. Índice cor vermelha

A medição da cor vermelha resultante das antocianinas foi efectuada através da leitura directa da absorvância dos vinhos a um comprimento de onda fixo de 520 nm, utilizando células de quartzo de percurso óptico de 1 mm, num espectrofotómetro UV/Vis Shimadzu 265.

2.2. Índice de cor

Os vinhos novos apresentam um máximo de absorvância a 520 nm (característico da cor vermelha), que diminui com o envelhecimento, aumentando a absorvância aos 420 nm, na região dos amarelos/castanhos. A componente azul, devido às formas quinonas das antocianinas livres e combinadas também não pode ser negligenciada. Por este motivo, a absorvância a 620 nm também contribui para o índice de cor.

O índice de cor (IC) dos vinhos foi avaliada medindo directamente a absorvância dos vinhos a 420, 520 e a 620 nm, utilizando células de quartzo de percurso óptico de 1 mm, num espectrofotómetro UV/Vis Shimadzu 265, tendo sido calculada pela seguinte expressão:

$$IC = Abs\ 420 + Abs\ 520 + Abs\ 620$$

2.3. CIELab

O sistema CIELab foi o sistema utilizado para a quantificação e medição da cor. Está organizado segundo um sistema de coordenadas cartesianas rectangulares que traduzem com maior precisão a sensibilidade humana em relação à cor.

São três os elementos base que caracterizam uma cor: a luminosidade (L), a saturação ou cromaticidade (C) e a tonalidade (h).

A luminosidade (L) corresponde à transmitância e varia inversamente com a densidade corante do vinho. Os valores de luminosidade oscilam entre 0 (para uma amostra completamente opaca) e 100 (para uma amostra completamente transparente).

A percepção cromática de uma amostra é definida essencialmente pela sua tonalidade e pelo seu croma. A saturação (C) corresponde à maior ou menor monocromaticidade do vinho e a tonalidade (h) corresponde ao seu comprimento de onda dominante.

A tonalidade e o croma exprimem-se pelas coordenadas de cromaticidade a^* e b^* , que indicam dois eixos de cores antagónicas: o eixo a^* que varia de vermelho ($+a^*$) e verde ($-a^*$) e o eixo b^* que varia de amarelo ($+b^*$) a azul ($-b^*$). Para ambos os eixos, o zero indica cinzento neutro (figura 20).

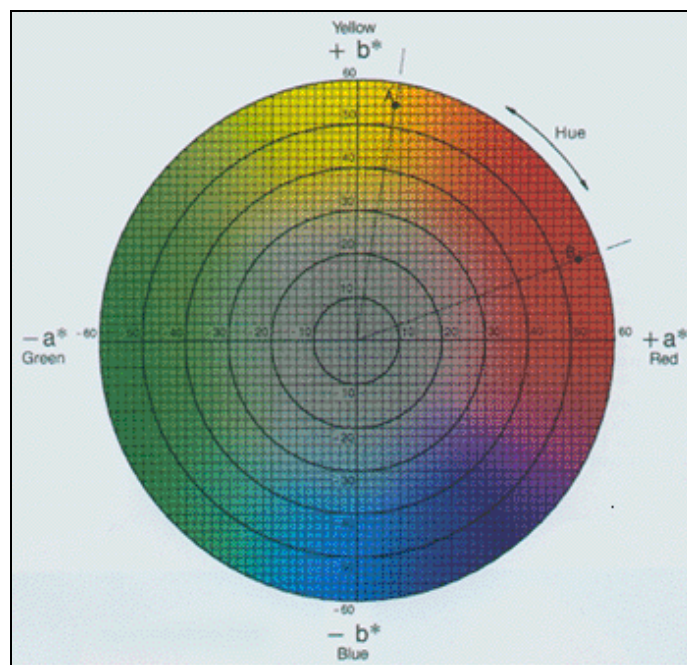


Figura 20. Círculo cromático

Para a determinação das coordenadas do espaço CIELab procedeu-se à determinação do espectro de transmitância dos vinhos para o espectro visível de luz (360-830 nm). As leituras foram efectuadas num espectrofotómetro UV-3101 Shimadzu de duplo feixe acoplado a um computador. Cada ensaio foi efectuado em triplicado e a leitura da transmitância foi feita em relação à água desionizada em células de vidro de 2 mm de percurso óptico e com uma amostragem em cada intervalo de 1 nm.

Utilizando-se um software desenvolvido pelo Departamento de Física da Universidade do Porto, determinaram-se os valores triestimulares (X, Y e Z) e as respectivas coordenadas L^* a^* b^* para cada vinho com a condição iluminante D65 e um ângulo do observador de 10°.

3. Análise de antocianinas

3.1. Antocianinas livres (método do bissulfito)

As antocianinas livres reagem facilmente com o anião bissulfito dando origem a um aducto incolor. À medida que os vinhos envelhecem, as antocianinas evoluem, levando à formação de novos pigmentos mais polimerizados e mais resistentes à descoloração pelo bissulfito. O doseamento das antocianinas livres foi efectuado através de uma adaptação do método do bissulfito, de acordo com o procedimento descrito na literatura (Sommers & Evans, 1976).

Num matrás, adicionou-se 40,0 mL de HCl 2 %, 2,0 mL de etanol e 2,0 mL de cada vinho. De seguida, para cada tubo de ensaio pipetou-se 10,0 mL de cada solução anterior e 4,0 mL de bissulfito de sódio 20 %. Para outro tubo de ensaio, que funcionou como referência, pipetou-se 10,00 mL de cada solução e 4,00 mL de água desionizada.

Depois de agitar no vórtex, colocaram-se todos os tubos ao abrigo da luz e à temperatura ambiente durante 20 minutos. Decorrido este tempo, mediu-se a absorvância das soluções em relação ao branco (água desionizada) a 520 nm, utilizando células de vidro de percurso óptico de 10 mm. As medições de absorvância foram feitas num espectrofotómetro UV/Vis Shimadzu 265.

A quantidade de antocianinas livres ou outros pigmentos derivado das antocianinas, corresponde à diferença de absorvância entre as referências e as amostras.

Cada ensaio foi efectuado em triplicado e o teor em antocianinas livres totais (mg.L^{-1}) foi calculado usando uma recta de calibração obtida a partir de uma solução padrão de 3-glucósido da malvidina:

$$|\text{Vinho}| (\text{mg.L}^{-1}) = 803,69 * \Delta \text{ abs} + 15,129$$

3.2. Antocianinas monoglucósidas e derivados pirúvicos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Os vinhos foram analisados directamente por HPLC (Merck Ref. L-7100) equipado com um detector UV-Vis (Merck Ref. L-7420 A) por injeção directa de 20 μL , numa coluna Merck de fase reversa (C18 250 x 4,6 mm d.i.) segundo o método descrito na literatura (Roggero *et al.*, 1987).

Os solventes utilizados foram $\text{H}_2\text{O}/\text{HCOOH}$ (90:10) - solvente A e $\text{HCOOH}/\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (10:30:60) - solvente B. A eluição decorreu com um fluxo de $1,0 \text{ mL.min}^{-1}$, de acordo com o gradiente descrito na tabela 5.

Tabela 5. Gradiente de eluição utilizado na análise das antocianinas totais.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Solvente A (%)</i>	<i>Solvente B (%)</i>
0	80	20
70	15	85
75	0	100
85	0	100
90	80	20

Os cromatogramas foram obtidos a 520 nm e a 25 °C, apresentando um perfil cromatográfico semelhante ao apresentado na figura 21.

A concentração em antocianinas monoglucósidas e em derivados pirúvicos expressa em mg.L^{-1} , foi determinada a partir de uma recta de calibração obtida por injeção de padrões de 3-glucósido de malvidina (A) e de padrões de aductos de ácido pirúvico 3-glucósido de malvidina (B):

$$|\text{Vinho}| \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} = 1,53 \times 10^{-5} * \text{Área} \quad (\text{A})$$

$$|\text{Vinho}| \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} = 2,96 \times 10^{-5} * \text{Área} \quad (\text{B})$$

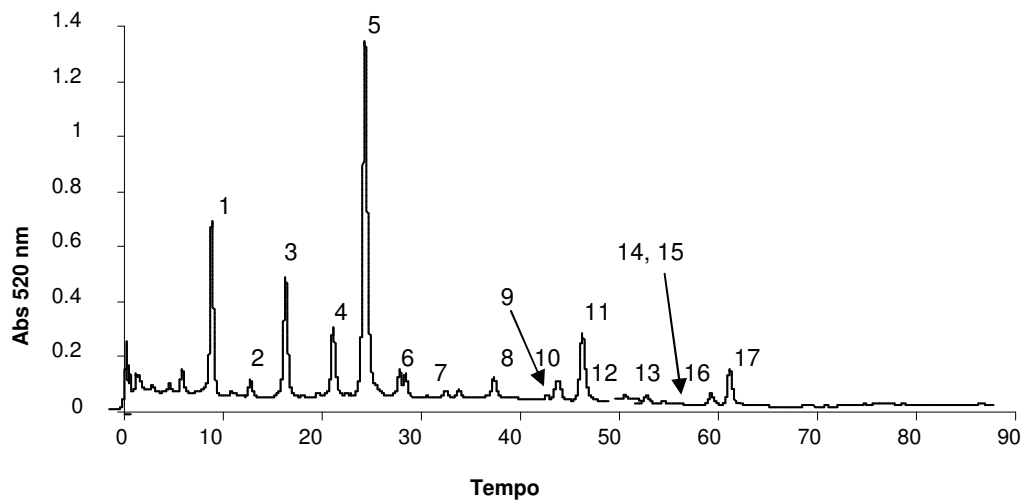


Figura 21. Cromatograma de HPLC das antocianinas presentes num vinho novo. 1: 3-glucósido de delphinidina; 2: 3-glucósido de cianidina; 3: 3-glucósido de petunidina; 4: 3-glucósido de peonidina; 5: 3-glucósido de malvidina; 6: 3-acetilglucósido de delphinidina; 7: 3-acetilglucósido de cianidina; 8: 3-acetilglucósido de petunidina; 9: 3-acetilglucósido de peonidina; 10: 3-cumaróilglucósido de delphinidina; 11: 3-acetilglucósido de malvidina; 12: 3-cumaróilglucósido de cianidina; 13: 3-cafeóilglucósido de peonidina; 14: 3-cumaróilglucósido de petunidina; 15: 3-cafeóilglucósido de malvidina; 16: 3-cumaróilglucósido de peonidina; 17: 3-cumaróilglucósido de malvidina.

4. Doseamento de taninos proantociânicos totais (TPA)

A quantidade de taninos proantociânicos totais foi analisada directamente nos vinhos, com base no método descrito na literatura (Ribéreau & Stonestreet, 1966; Darné, 1991). Esta análise baseia-se na reacção de decomposição dos taninos condensados (procianidinas e prodelfinidinas) que são compostos sem cor e que em meio ácido e por acção do calor libertam compostos corados, as antocianidinas.

Para um tubo de hidrólise adicionou-se 4,0 ml de solução diluída de vinho (1:50), 2,0 ml de água desionizada e 6,0 ml de HCl 37 %. Para que a hidrólise dos taninos só se iniciasse com a colocação dos tubos de hidrólise no banho-maria, o ácido clorídrico foi adicionado em último lugar. De seguida, rolharam-se os tubos e aqueceram-se em banho-maria a 100 °C durante 30 minutos.

Simultaneamente, preparou-se uma solução de referência com a mesma composição das soluções anteriores, mas sem levar ao aquecimento.

Após os 30 minutos, arrefeceram-se os tubos de hidrólise em água fria durante 10 minutos e ao abrigo da luz. Passado este tempo, retiraram-se os tubos da água, cobriram-se com papel de alumínio e adicionou-se 1,00 ml de etanol a cada tubo de hidrólise para estabilizar a cor das antocianinas, agitando-se de seguida num vórtex.

Por fim mediu-se a absorvância de todas as soluções (aquecidas e de referência) a um comprimento de onda fixo de 520 nm em relação ao branco (água desionizada). As medições de absorvância foram efectuadas num espectrofotómetro UV/Vis Shimadzu 265, utilizando células de vidro de percurso óptico de 10 mm. O valor de absorvância para cada amostra foi obtido subtraindo o valor de cada ensaio pelo valor de absorvância da solução de referência.

Cada ensaio foi efectuado em triplicado e o teor em procianidinas totais (g.L^{-1}) foi calculado usando uma recta de calibração obtida a partir de uma mistura de procianidinas oligoméricas:

$$|\text{Vinho}| (\text{g.L}^{-1}) = 19,33 * \Delta \text{abs}$$

No caso dos vinhos generosos, esta determinação não pode ser efectuada directamente uma vez que o elevado teor em açúcar dá origem à formação de pigmentos que iriam interferir na medição final da cor. Assim, antes de se proceder ao doseamento dos taninos totais foi necessário remover os açúcares dos vinhos analisados, procedendo a uma pré-purificação em “flash” cromatografia em gel de sílica C18 de fase reversa.

5. Doseamento dos flavan-3-óis

5.1. Fraccionamento dos extractos de vinho por cromatografia líquida em coluna de gel

Os flavan-3-óis de baixo peso molecular foram extraídos do vinho (20,0 mL) com acetato de etilo (3 x 20 mL). Rejeitou-se a fase aquosa (camada inferior) e a fase orgânica, contendo os flavan-3-óis, foi evaporada até à secura num evaporador rotativo sob vácuo ($\approx 30^\circ \text{C}$). O resíduo obtido foi ressuscitado em 2,0 mL de metanol e congelado para posterior fraccionamento das catequinas e procianidinas oligoméricas por cromatografia líquida em coluna.

Para cada amostra de vinho, as extracções foram efectuadas em duplicado.

O resíduo obtido após a extracção líquido-líquido, foi aplicado numa coluna de gel Toyopearl HW-40 (S) (250 x 25 mm d.i.), previamente acondicionada com 99,8% metanol a um fluxo de $0,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Foram recolhidas duas fracções: fracção A, durante 150 minutos de eluição e que contém a (+)-catequina, (-)-epicatequina e ácidos fenólicos e a fracção B, durante mais 150 minutos. Esta última é correspondente à eluição da (-)-epicatequina-galhato, das oito procianidinas diméricas (B1 à B8), do dímero B2-galhato e do trímero C1. As duas fracções foram evaporadas até à secura num evaporador rotativo sob vácuo e o resíduo resultante foi ressuscitado em 1,0 mL de solução etanólica a 12% (v/v) a pH 3,2 e congelado para posterior análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

5.2. Análise das catequinas e procianidinas oligoméricas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

As fracções A obtidas anteriormente foram analisadas directamente por HPLC equipado com um detector DAD (L-7450A, Merck) por injeção directa de $20 \mu\text{L}$. Utilizaram-se duas colunas de fase reversa (C18 250 x 4,6 mm d.i) alinhadas em série e termostatizadas a 25°C , de acordo com o procedimento descrito na literatura (de Freitas *et al.*, 1998).

Os solventes utilizados foram H₂O/CH₃COOH (97,5:2,5) - solvente A e CH₃CN/solvente A (80:20) - solvente B. A eluição decorreu com um fluxo de 1,0 mL.min⁻¹, de acordo com o gradiente descrito na tabela 6.

Tabela 6. Gradiente de eluição utilizado na análise das catequinas e das procianidinas oligoméricas.

<i>Tempo (minutos)</i>	<i>Solvente A (%)</i>	<i>Solvente B (%)</i>
0	93	7
5	93	7
90	80	20
95	0	100
105	0	100
110	93	7

Os cromatogramas foram obtidos a 280 nm e apresentam um perfil cromatográfico semelhante ao apresentado nas figuras 22 e 23.

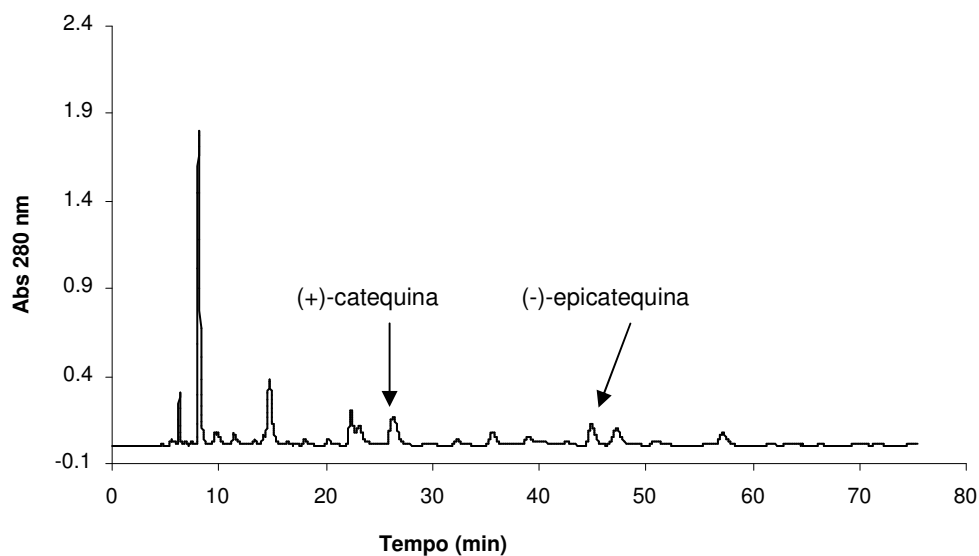


Figura 22. Cromatograma de HPLC da fracção A de um vinho.

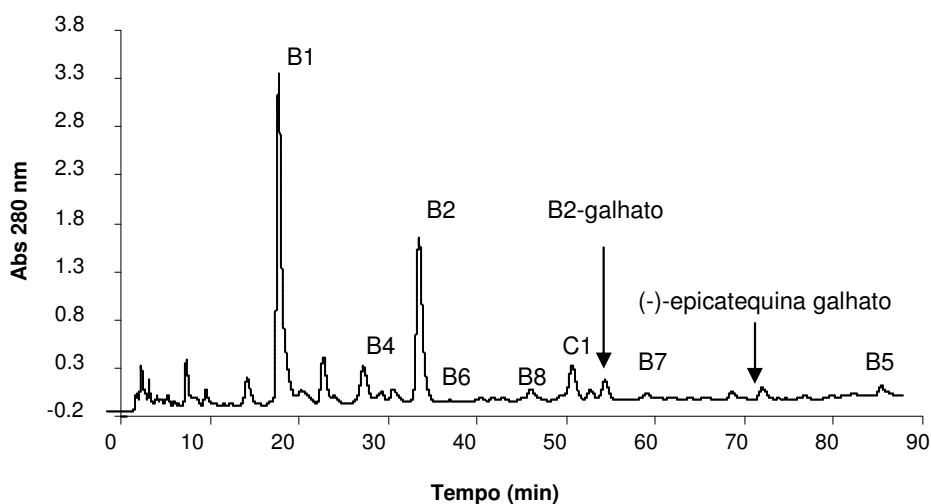


Figura 23. Cromatograma de HPLC da fracção B de um vinho.

As fracções B foram analisadas directamente por HPLC equipado com um detector UV-Vis (L-7420A, Merck) por injeção directa de 20 μL , de acordo com o procedimento descrito anteriormente.

A concentração das catequinas e das procianidinas oligoméricas, expressa em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, foi determinada a partir das rectas de calibração obtidas com base nos padrões respectivos.

6. Poder tanante dos vinhos

O poder tanante dos vinhos caracteriza-se pela capacidade que alguns compostos fenólicos possuem, nomeadamente os taninos, de interagirem com as proteínas formando agregados insolúveis. O poder tanante dos vinhos foi determinado por nefelometria de acordo com o procedimento descrito na literatura (de Freitas & Mateus, 2001).

As amostras de vinho foram diluídas 50 vezes com uma solução sintética água/etanol 12% (v/v) com 5,0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido tartárico, a pH 3,2, previamente filtrada (0,45 μm). Pipetaram-se 4,0 mL dessa solução para quatro células de turbidímetro, agitaram-se no vórtex e efectuou-se a leitura da turbidez da solução (d_o - branco) num turbidímetro HACH 2100 N, equipado com um adaptador de células de 100 x 12 mm.

Em seguida, adicionou-se 150 μL de uma solução aquosa de proteína ASB (albumina sérica bovina) $0,8 \text{ g.L}^{-1}$ a cada célula de turbidímetro, agitou-se no vórtex e mantiveram-se à temperatura ambiente e ao abrigo da luz durante 30 minutos.

Ao fim deste tempo mediu-se o valor da turbidez máxima (d). O poder tanante dos vinhos foi expresso em unidades de turbidez (NTU.mL^{-1}) e foi determinado pela seguinte expressão:

$$\text{NTU.mL}^{-1} = \frac{d - d_0}{0,08}$$

7. Índice diálise dos vinhos

O índice de diálise permite avaliar a complexidade estrutural dos compostos fenólicos presentes no vinho através da determinação da percentagem de compostos polimerizados que ficam retidos no interior de uma membrana de diálise (celulose; 6 mm d.i.; cut off 12-16 KDa de peso molecular; porosidade média de 25 Å de raio). O procedimento experimental foi realizado de acordo com o procedimento descrito na literatura (Glories, 1978; Mateus *et al.*, 2001c)

Uma fracção de 5,0 mL de vinho foi introduzida numa membrana de diálise e colocada num frasco com 50,0 mL de solução sintética água/etanol 12% (v/v) com $5,0 \text{ g.L}^{-1}$ de ácido tartárico, a pH 3,2. Fecharam-se os frascos e mantiveram-se à temperatura ambiente e ao abrigo da luz durante 24 horas, ao fim das quais se mediu a absorvância a 280 nm (d), num espectrofotómetro UV/Vis Shimadzu 265, utilizando células de quartzo de 10 mm de percurso óptico (foi necessário diluir previamente o dialisado 10 vezes).

Simultaneamente preparou-se uma solução de referência (d_0), diluindo o vinho 100 vezes, mantendo-se à temperatura ambiente e ao abrigo da luz durante 24 horas ao fim das quais se mediu a absorvância nas condições descritas anteriormente. O índice de diálise foi determinado pela seguinte expressão:

$$I.D = \frac{d_0 - d}{d_0}$$

Tanto as leituras da absorvância do dialisado como da solução de referência foram feitas em triplicado.

A solução de referência serviu ainda para determinar o teor em compostos fenólicos no vinho. Esta determinação baseia-se na capacidade dos núcleos benzénicos absorverem radiação na região do ultra-violeta, apresentando um máximo de absorção a 280 nm. Foi efectuada num espectrofotómetro UV/Vis Shimadzu 265, utilizando células de quartzo de 10 mm de percurso óptico.

8. Doseamento de fenóis totais – Índice Folin-Ciocalteu

Em meio alcalino, os compostos fenólicos reduzem a mistura dos ácidos fosfotungsténico e fosfomolibdénico em óxidos de tungsténio e de molibdénio de cor azul. A reacção ocorre em meio alcalino e a coloração obtida apresenta um máximo a 760 nm, sendo a sua intensidade proporcional à concentração de compostos fenólicos. O doseamento dos fenóis totais foi feito de acordo com o procedimento descrito na literatura (Singleton & Rossi, 1965).

Num balão de 100,0 mL, introduziu-se 1,0 mL de vinho diluído 1:10, 50,0 mL de água desionizada, 5,0 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e 20,0 mL de carbonato de sódio a 20%, perfazendo o volume com água desionizada. Depois de agitar para homogeneizar, esperou-se 40 minutos para uma estabilização completa da reacção. A absorvância foi medida em relação ao branco (água desionizada) a 760 nm, com células de vidro de 10 mm de percurso óptico, num espectrofotómetro UV/Vis Shimadzu 265.

O teor em fenóis totais, expresso em g equivalentes de catequina.L⁻¹, foi determinado através de uma curva de calibração obtida a partir da (+)-catequina:

$$|\text{Vinho}| \left(\text{g equivalentes catequina.L}^{-1} \right) = \left(\text{Abs} - 0,0121 \right) / \left(\frac{1}{1,048} \right) * 10$$

9. Doseamento de polissacáridos

Os polissacáridos constituem um dos principais grupos de macromoléculas existentes nos vinhos. São derivados das paredes celulares primárias das grainhas e das paredes celulares das leveduras (Vidal *et al.*, 2000). O seu doseamento nos vinhos foi feito através de uma adaptação do método descrito na literatura (Ayestarán *et al.*, 2004). Este método baseia-se na medição por nefelometria da turbidez da solução após a precipitação dos polissacáridos solúveis numa solução etanol/ácido.

Após a centrifugação dos vinhos (10 minutos a 3000 rpm) pipetou-se 500 µL de vinho para três células de turbidímetro e adicionou-se 5 volumes de uma solução etanol/ácido clorídrico (0,3 M). Mantiveram-se as soluções a 4 °C durante 18 horas, ao fim das quais se efectuou a leitura da turbidez num turbidímetro HACH 2100 N.

O teor em polissacáridos (g.L⁻¹) foi calculado usando uma recta de calibração obtida a partir de soluções padrão de polissacáridos existentes no vinho:

$$|\text{Vinho}| \text{ (g.L}^{-1}\text{)} = \left(\frac{\text{turbidez} - 0,0848}{103,62} \right)$$

10. Propriedades antioxidantes

Para avaliar a capacidade de sequestrar radicais livres (antiradicalar) e de quelatar iões metálicos (poder redutor) dos vinhos utilizaram-se os métodos espectrofotométricos DPPH e FRAP, respectivamente.

10.1. Capacidade antiradicalar

A avaliação da capacidade antiradicalar dos vinhos foi efectuada utilizando um radical livre e estável, o DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) que reage com o antioxidante numa solução de metanol segundo o método descrito na literatura (Bondet *et al.*, 1997).

Na sua forma radicalar o DPPH[•] absorve a 515 nm, mas após a redução por um antioxidante ou por uma espécie radical a absorção desaparece. A redução da concentração do DPPH[•] é então monitorizada pelo decréscimo da absorvância durante a reacção.

Preparou-se uma solução 60 μM de radical DPPH em metanol e colocaram-se 297 μL desta solução numa microplaca de poços. Adicionou-se 3 μL de vinho diluído com solução modelo (solução sintética água/etanol 12% (v/v) com 5,0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido tartárico, a pH 3,2). O vinho foi diluído de modo a ter uma coloração tal que após a reacção se obtivessem valores dentro da gama de leitura do espectrofotómetro. O branco foi efectuado usando 297 μL metanol e 3 μL de vinho, enquanto que para o controlo usou-se a solução de DPPH sem a presença de qualquer antioxidante. A leitura da absorvância foi efectuada a 515 nm, espectrofotómetro *Bio-Tek Powerwave XS* e no tempo 0 e 20 minutos. Cada ensaio foi efectuado em triplicado e os resultados foram expressos em μM equivalentes de trolox. mL^{-1} vinho, após a realização de uma curva de calibração utilizando soluções deste composto com diferentes concentrações (2,5-25 μM).

10.2. Avaliação do poder redutor

A avaliação do poder redutor foi realizada segundo o método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) desenvolvido por Benzie & Strain (1996), com algumas modificações. Esta técnica baseia-se na redução do complexo de tripiridilriazina férrica $[\text{Fe}(\text{III})\text{-TPTZ}_2]^{3+}$ a tripiridilriazina ferrosa $[\text{Fe}(\text{II})\text{-TPTZ}_2]^{2+}$, por um antioxidante a pH cerca de 3,6. O produto da reacção é detectado através de espectrofotometria pois apresenta um máximo de absorção a 593 nm.

Preparou-se o reagente FRAP do seguinte modo: 10 volumes de tampão acetato 300 mM, pH 3,6; 1 volume de solução 10 mM de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) em 40 mM de HCl e 1 volume de solução de FeCl_3 20 mM. Este reagente foi aquecido numa estufa a 37° C e foi diluído a 1/3 com tampão acetato. Colocaram-se 297 μL do reagente FRAP numa microplaca de poços e adicionou-se 3 μL de vinho diluído com solução modelo. O vinho foi diluído com solução modelo de modo a ter uma coloração tal que após a reacção se obtivessem valores dentro da gama de leitura do espectrofotómetro. O branco foi efectuado com 297 μL de reagente FRAP e 3 μL de solução modelo. As leituras da absorvância foram efectuadas a 593 nm, ao tempo 0 e 4 minutos e a 37° C num espectrofotómetro *Bio-Tek Powerwave XS*. Os ensaios foram efectuados em triplicado e os resultados foram expressos em μM equivalentes de trolox. mL^{-1} de vinho, usando uma

curva de calibração obtida a partir de soluções padrão deste composto com diferentes concentrações (2,5-50 μM).

11. Análise estatística

Os ensaios foram efectuados em triplicado. Os valores foram expressos com médias aritméticas \pm desvio padrão. As diferenças estatísticas foram avaliadas através da análise de variância a um factor (ANOVA), seguido pelo teste de Bonferroni para comparações entre dois grupos. Foram consideradas significativas as diferenças com $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objectivo de avaliar o efeito dos diferentes tipos de vedantes na composição polifenólica do vinho e o modo como podem afectar algumas das suas características sensoriais (cor e sabor) e propriedades antioxidantes, procedeu-se à determinação de alguns parâmetros físico-químicos e à determinação da composição de algumas famílias de compostos fenólicos associados a essas características.

Neste estudo analisaram-se vinhos generosos (Vinhos do Porto) e vinhos de mesa tintos, com diferentes composições polifenólicas e diferentes estados de envelhecimento em garrafa. Os vinhos em estudo foram selados com diferentes tipos de vedantes: rolha de cortiça (natural, técnica e colmatada), vedante sintético (Sinteticor[®], Supremecorq[®] e Nomacorc[®]) e vedante de rosca (*screw-cap*).

1. Ensaio de rolha de cortiça vs vedante sintético vs vedante screw-cap em vinhos tintos do Porto (colheita 2003)

Neste primeiro ensaio, procedeu-se ao estudo da interacção vinho-vedante analisando vinhos do Porto de três marcas diferentes, da colheita de 2003 (vinhos A, B e C). Estes vinhos foram mantidos em garrafa durante 2 anos, tendo sido selados com três tipos de vedantes: rolha de cortiça natural, vedante sintético Sinteticor[®] e vedante *screw-cap*. Cada ensaio foi efectuado em duplicado.

1.1. Características cromáticas

O índice de cor vermelha (ICV) foi determinado medindo-se a absorvância a 520 nm, que corresponde ao valor do comprimento de onda de absorção máxima das antocianinas. Para a determinação do índice de cor mediu-se ainda a absorvância a 420 e a 620 nm. Na tabela 7 apresentam-se os resultados obtidos para cada amostra. Os resultados apresentados nas figuras 24, 25 e 26 referem-se aos valores médios obtidos por amostra (AC, AS, AW, BC, BS, BW e CC, CS, CW).

Tabela 7. Absorvância a 420, 520 (ICV) e 620 nm e índice de cor (IC) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Vinhos	Abs 420 nm	% 420 nm	Abs 520 nm	% 520 nm	Abs 620 nm	% 620 nm	IC
AC1	0,783 ± 0,002 ^a	32,0	1,356 ± 0,001 ^a	55,4	0,311 ± 0,001 ^a	12,7	2,450 ± 0,002 ^a
AC2	0,781 ± 0,001 ^a	31,9	1,356 ± 0,002 ^a	55,4	0,309 ± 0,001 ^{a, b}	12,6	2,447 ± 0,002 ^{a, b}
AS1	0,815 ± 0,001 ^b	32,5	1,375 ± 0,002 ^b	54,8	0,321 ± 0,002 ^c	12,8	2,511 ± 0,003 ^c
AS2	0,814 ± 0,002 ^b	32,5	1,375 ± 0,001 ^b	54,9	0,315 ± 0,001 ^d	12,6	2,503 ± 0,002 ^d
AW1	0,776 ± 0,001 ^c	31,8	1,357 ± 0,001 ^a	55,5	0,310 ± 0,001 ^{a, b}	12,6	2,443 ± 0,002 ^{b, e}
AW2	0,776 ± 0,001 ^c	31,8	1,356 ± 0,001 ^a	55,6	0,307 ± 0,001 ^b	12,6	2,439 ± 0,001 ^e
BC1	0,645 ± 0,001 ^a	32,0	1,116 ± 0,002 ^a	55,3	0,257 ± 0,003 ^a	12,7	2,018 ± 0,004 ^a
BC2	0,645 ± 0,001 ^a	32,2	1,110 ± 0,001 ^b	55,3	0,251 ± 0,001 ^b	12,5	2,006 ± 0,002 ^b
BS1	0,682 ± 0,003 ^b	32,6	1,138 ± 0,004 ^c	54,5	0,269 ± 0,001 ^c	12,9	2,088 ± 0,007 ^c
BS2	0,678 ± 0,003 ^b	32,7	1,132 ± 0,001 ^d	54,6	0,263 ± 0,002 ^d	12,7	2,073 ± 0,005 ^d
BW1	0,640 ± 0,001 ^{a, c}	32,1	1,106 ± 0,002 ^b	55,4	0,250 ± 0,001 ^b	12,5	1,996 ± 0,003 ^{b, e}
BW2	0,639 ± 0,001 ^c	32,0	1,105 ± 0,001 ^b	55,4	0,250 ± 0,001 ^b	12,5	1,993 ± 0,002 ^e
CC1	0,652 ± 0,002 ^a	32,5	1,102 ± 0,005 ^a	54,9	0,254 ± 0,001 ^a	12,6	2,008 ± 0,003 ^a
CC2	0,645 ± 0,001 ^b	32,4	1,096 ± 0,002 ^b	55,0	0,252 ± 0,001 ^{a, b}	12,6	1,993 ± 0,002 ^b
CS1	0,661 ± 0,001 ^c	32,6	1,116 ± 0,001 ^c	55,0	0,251 ± 0,001 ^b	12,4	2,028 ± 0,002 ^c
CS2	0,665 ± 0,002 ^c	32,7	1,114 ± 0,001 ^c	54,7	0,256 ± 0,002 ^a	12,6	2,035 ± 0,003 ^d
CW1	0,622 ± 0,001 ^d	32,0	1,078 ± 0,001 ^d	55,5	0,244 ± 0,001 ^c	12,6	1,945 ± 0,001 ^e
CW2	0,640 ± 0,001 ^e	32,4	1,089 ± 0,001 ^e	55,1	0,247 ± 0,001 ^c	12,5	1,976 ± 0,001 ^f

De um modo geral, os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos possuem um maior índice de cor vermelha (absorvância a 520 nm), seguindo-se os vinhos engarrafados com rolha de cortiça e com *screw-cap* (figura 24). No caso dos vinhos A e B, não se verificam

diferenças estatisticamente significativas entre os vinhos engarrafados com rolha de cortiça e com *screw-cap*.

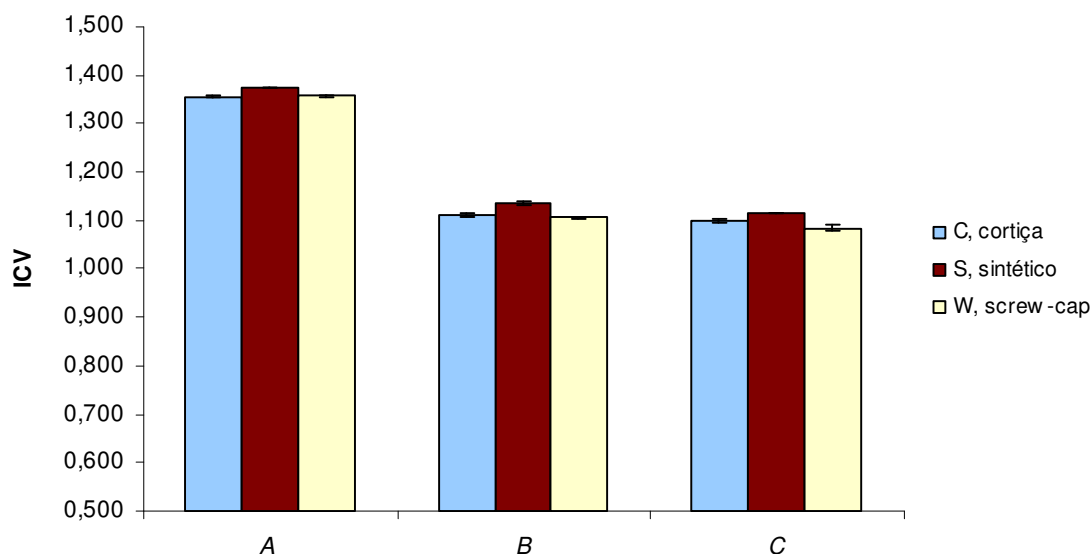


Figura 24. Índice de cor vermelha (abs 520 nm) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) obtido ao fim de 2 anos de engarrafamento.

A cor vermelha evidenciada por um vinho é devida à presença das antocianinas. No entanto, pode também resultar de fenómenos de copigmentação devido à presença de compostos como os flavan-3-óis e os taninos condensados, que podem actuar como copigmentos. Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos, apesar de possuírem um teor em antocianinas monoglucósidas ligeiramente mais baixo (tabela 9), possuem um teor em compostos fenólicos superior aos restantes vinhos que podem levar a uma intensificação da cor vermelha como resultado de fenómenos de copigmentação.

Estes resultados poderão também estar relacionados com a concentração em dióxido de enxofre dissolvido existente no vinho e que pode ser condicionada pelas diferentes permeabilidades ao oxigénio evidenciadas por cada vedante. Um estudo efectuado por Skouroumounis *et al.*, (2005) concluiu que os vinhos selados com vedantes sintéticos possuíam níveis mais baixos em dióxido de enxofre, seguindo-se os vinhos engarrafados com rolha de cortiça natural e com *screw-cap*. A diminuição do teor em SO_2 poderá levar a uma maior intensidade corante uma vez que a descoloração das antocianinas não ocorre em grande extensão.

Apesar dos vedantes sintéticos usados neste ensaio serem diferentes dos referidos na literatura, poderão evidenciar um comportamento semelhante, ocorrendo uma diminuição do teor em SO₂ e um aumento da IC.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos apresentam igualmente uma maior absorvância a 420 nm, evidenciando tonalidades mais amarelas que os restantes vinhos (figura 25). Estes resultados vão de encontro aos referidos na literatura. Diversos autores verificaram que o aumento da absorvância na região dos amarelos/castanhos devido aos fenómenos oxidativos decorrentes da maturação em garrafa era superior para os vinhos selados com vedantes sintéticos, seguindo-se os vedantes de cortiça e os vedantes *screw-cap*.

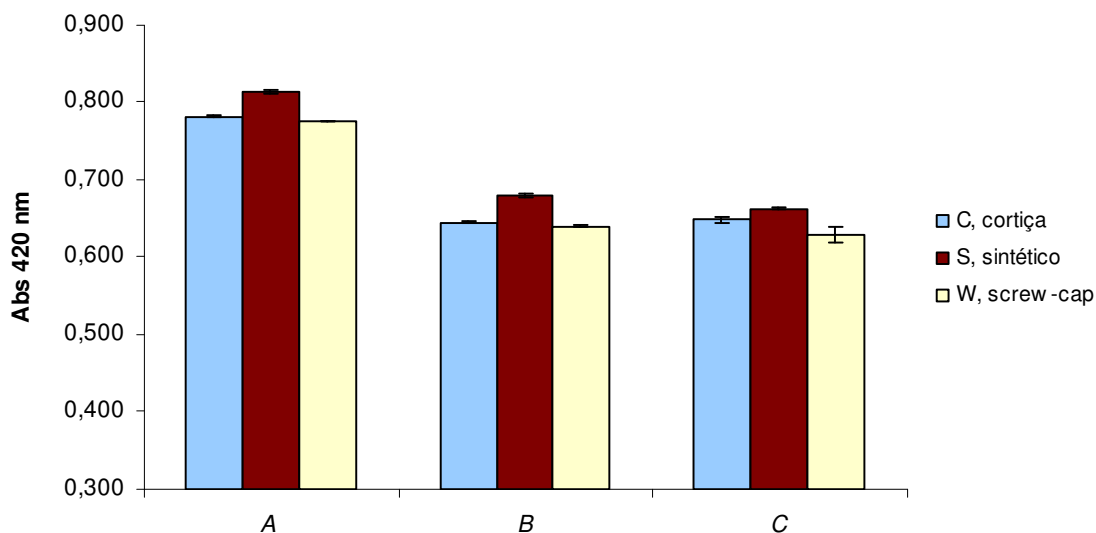


Figura 25. Abs 420 nm dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) obtida ao fim de 2 anos de engarrafamento.

Quanto ao índice de cor (figura 26), o comportamento evidenciado pelos três grupos de amostras é igual ao referido para o índice de cor vermelha, uma vez que a maior contribuição para a intensidade corante é dada pela absorvância a 520 nm.

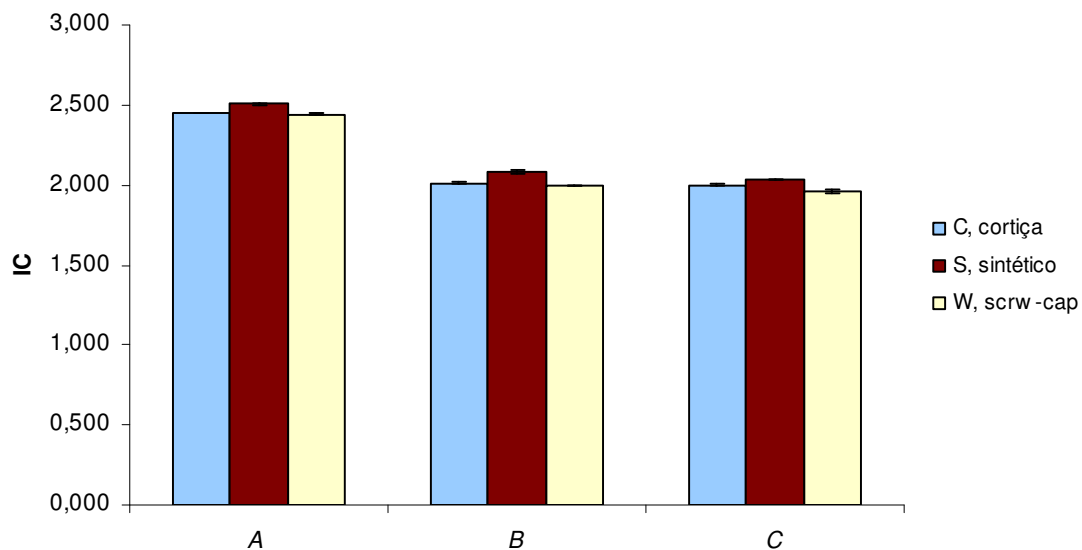


Figura 26. Índice de cor dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) determinada ao fim de 2 anos de engarrafamento.

A análise das componentes colorimétricas dos vinhos foi efectuada por determinação dos parâmetros CIELab. Os resultados obtidos estão reunidos na tabela 8. Nas figuras 27 a 29 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 8. Parâmetros colorimétricos dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. Amostras com o mesmo símbolo (#) são estatisticamente diferentes entre si.

Vinhos	L*	a*	b*	C*	Hº
AC1	28,12 ± 0,02 ^a	56,00 ± 0,02 ^a	26,20 ± 0,09 ^a	61,83 ± 0,03 ^a	25,07 ± 0,08 ^a
AC2	28,81 ± 0,01 ^b	56,61 ± 0,02 ^b	24,38 ± 0,02 ^b	61,63 ± 0,03 ^{a, #}	23,30 ± 0,01 ^b
AS1	27,92 ± 0,02 ^a	55,74 ± 0,01 ^c	27,76 ± 0,06 ^c	62,25 ± 0,02 ^{a, #}	26,44 ± 0,04 ^c
AS2	28,34 ± 0,01 ^a	56,23 ± 0,03 ^d	26,05 ± 0,04 ^a	61,97 ± 0,03 ^a	24,86 ± 0,04 ^a
AW1	28,23 ± 0,01 ^a	56,20 ± 0,01 ^{a, d}	25,80 ± 0,01 ^a	61,84 ± 0,01 ^a	24,66 ± 0,01 ^a
AW2	29,20 ± 0,30 ^c	56,90 ± 0,20 ^e	24,70 ± 0,70 ^b	62,10 ± 0,40 ^a	23,50 ± 0,50 ^b
BC1	32,33 ± 0,03 ^a	56,26 ± 0,02 ^a	20,49 ± 0,04 ^a	59,88 ± 0,01 ^a	20,01 ± 0,04 ^a
BC2	32,81 ± 0,04 ^b	56,44 ± 0,01 ^b	20,62 ± 0,08 ^{a, b}	60,09 ± 0,03 ^b	20,07 ± 0,07 ^a
BS1	31,45 ± 0,06 ^c	55,66 ± 0,07 ^c	22,50 ± 0,05 ^c	60,04 ± 0,09 ^{a, b}	22,01 ± 0,02 ^c
BS2	31,62 ± 0,05 ^d	55,82 ± 0,09 ^d	22,96 ± 0,02 ^d	60,35 ± 0,08 ^c	22,35 ± 0,04 ^d
BW1	32,60 ± 0,07 ^e	56,44 ± 0,02 ^{a, b}	20,20 ± 0,10 ^{a, #}	59,99 ± 0,01 ^{a, b}	19,70 ± 0,10 ^e
BW2	32,75 ± 0,06 ^{b, e}	56,41 0,04 ^b	20,70 ± 0,10 ^{a, b, #}	60,09 ± 0,08 ^b	20,10 ± 0,10 ^b
CC1	32,88 ± 0,03 ^a	55,96 ± 0,03 ^a	21,44 ± 0,09 ^a	59,93 ± 0,05 ^a	20,96 ± 0,05 ^a
CC2	33,52 ± 0,05 ^b	56,12 ± 0,07 ^b	19,46 ± 0,03 ^b	59,40 ± 0,05 ^b	19,12 ± 0,07 ^b
CS1	32,83 ± 0,02 ^a	55,89 ± 0,01 ^a	22,10 ± 0,10 ^c	60,11 ± 0,03 ^a	21,59 ± 0,09 ^c
CS2	32,69 ± 0,01 ^c	55,90 ± 0,08 ^a	22,00 ± 0,10 ^c	60,00 ± 0,20 ^a	21,20 ± 0,40 ^{a, c}
CW1	33,58 ± 0,02 ^b	56,45 ± 0,02 ^c	19,50 ± 0,10 ^b	59,73 ± 0,04 ^{a, c}	19,10 ± 0,10 ^b
CW2	33,85 ± 0,06 ^d	56,23 ± 0,04 ^b	19,27 ± 0,06 ^b	59,44 ± 0,06 ^{b, c}	18,92 ± 0,05 ^b

De um modo geral, verifica-se que a utilização de diferentes tipos de vedantes induz alterações nas componentes colorimétricas analisadas.

O parâmetro L^* (luminosidade) permite avaliar a intensidade da cor. Das amostras analisadas, os vinhos selados com vedantes sintéticos foram os que apresentaram um valor de L^* mais baixo (menor luminosidade e maior opacidade), o que significa que estes vinhos apresentam uma maior intensidade de cor. Os vinhos engarrafados com vedantes de cortiça e com *screw-cap* apresentam valores de L^* superiores, o que se traduz em vinhos mais claros (figura 27). Estes resultados estão de acordo com os discutidos anteriormente, uma vez que os vinhos selados com vedantes sintéticos foram os que apresentaram uma maior absorvância a 420, 520 e a 620 nm, o que se traduziu numa maior intensidade de cor.

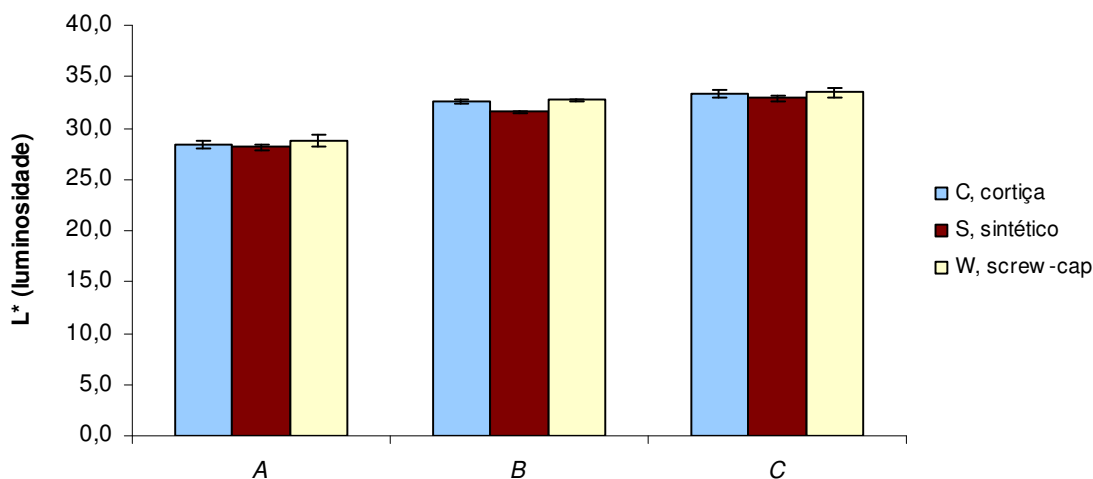


Figura 27. Valor médio do parâmetro L^* (luminosidade) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) determinado ao fim de 2 anos de engarrafamento.

Os vinhos que possuem uma maior concentração em antocianinas (vinhos engarrafados com *screw-cap*; tabela 9), deveriam apresentar um valor de L^* inferior (menor luminosidade), o que se traduziria numa maior intensidade de cor. Tal não se verifica uma vez que o vinho com menor teor em antocianinas monoglucósidas (vinho engarrafado com vedante sintético) é o que possuiu uma maior intensidade de cor.

As coordenadas de cromaticidade a^* e b^* , indicam os dois eixos de cores antagônicas: o eixo a^* que varia de vermelho a verde e o eixo b^* que varia de amarelo a azul.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos apresentam um valor de b^* superior, seguindo-se os vinhos engarrafados com vedantes de cortiça e com *screw-cap*. O aumento da coordenada cromática b^* indica um desvio da cor no sentido da tonalidade amarela o que é confirmado pelo aumento da absorvância a 420 nm dos vinhos selados com vedantes sintéticos, quando comparados com os outros vedantes em estudo (figuras 28 e 29).

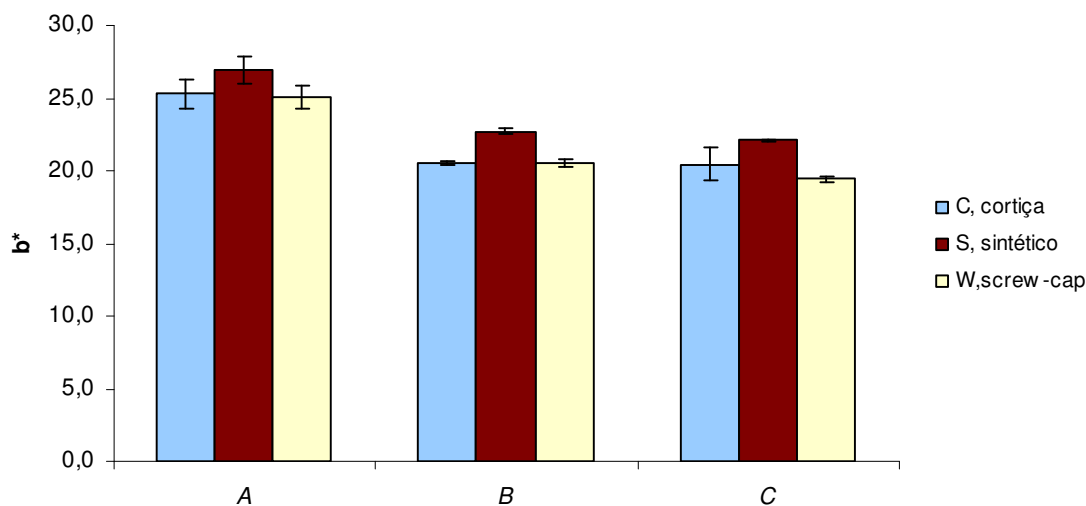


Figura 28. Valor médio do parâmetro b^* dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) obtido ao fim de 2 anos de engarrafamento.

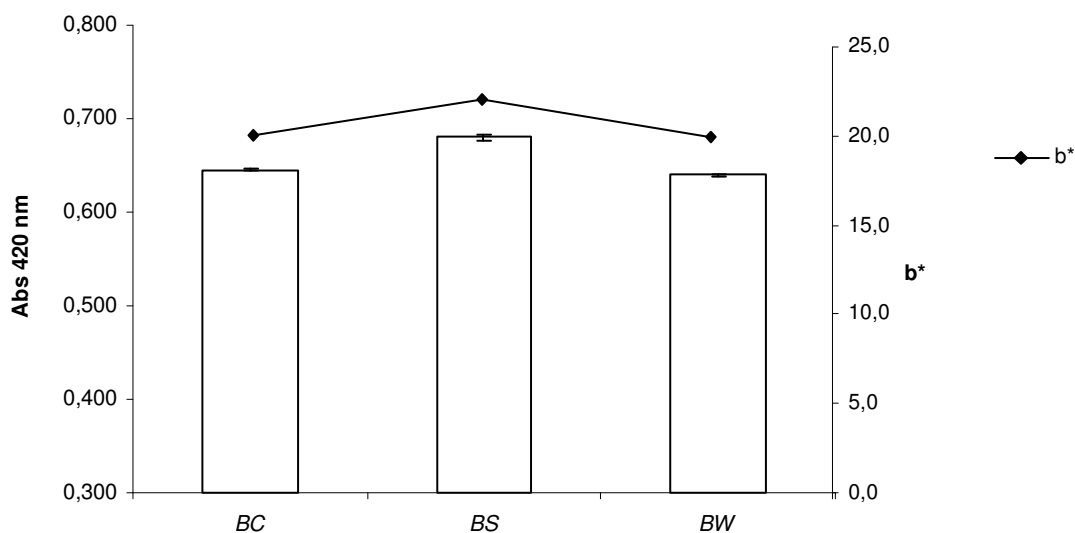


Figura 29. Valores médios do parâmetro b^* e abs a 420 nm dos vinhos B engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) obtidos ao fim de 2 anos de engarrafamento.

O parâmetro C^* (cromaticidade) permite caracterizar a concentração ou saturação da cor global, enquanto que o parâmetro H° (tonalidade) permite avaliar o tom de cor. Quanto maior for o valor de H° , mais a tonalidade da cor estará deslocada no sentido da cor amarela. Novamente os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos apresentam um maior valor de C^* e de H° , seguindo-se os vinhos engarrafados com vedantes de cortiça e com *screw-cap*.

1.2. Análise de antocianinas

Em vinhos novos, a fracção dos pigmentos vermelhos corresponde, na sua maioria, a antocianinas livres que reagem facilmente com o bissulfito dando origem a aductos incolores, descorando a solução. No entanto, à medida que o vinho envelhece, as antocianinas evoluem e dão origem a novos pigmentos mais resistentes ao bissulfito (pigmentos polimerizados).

A análise das antocianinas livres foi feita pelo método do bissulfito enquanto que a quantificação das antocianinas 3-monoglucósidas e dos pigmentos derivados das antocianinas foi efectuada por HPLC. A tabela 9 reúne os resultados obtidos.

Tabela 9. Composição em antocianinas livres (ALT), antocianinas polimerizadas (AP), antocianinas 3-monoglucósidas (AMT) e pigmentos derivados das antocianinas (PDA) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Vinhos	ALT (mg.L ⁻¹)	AP (%)	AMT (mg.L ⁻¹)	PDA (mg.L ⁻¹)
AC1	183 ± 2 ^a	64,3	2,5	22,6
AC2	183,6 ± 0,9 ^{a, b}	63,7	3,0	27,0
AS1	188 ± 2 ^{b, c}	64,7	1,8	19,9
AS2	188 ± 2 ^c	64,0	1,9	18,7
AW1	191 ± 1 ^c	63,0	3,4	25,6
AW2	190 ± 2 ^c	63,7	3,3	27,7
BC1	176,1 ± 0,5 ^a	62,5	4,5	24,4
BC2	179 ± 1 ^a	61,3	4,6	25,3
BS1	175,1 ± 0,8 ^a	62,6	4,2	26,6
BS2	178,0 ± 0,5 ^a	61,7	3,1	18,0
BW1	174,5 ± 0,9 ^a	61,6	5,9	29,7
BW2	175 ± 1 ^a	60,6	6,1	38,3
CC1	177,7 ± 0,5 ^a	61,4	2,6	19,2
CC2	170 ± 1 ^b	60,9	4,1	26,3
CS1	173,5 ± 0,8 ^c	61,3	2,8	20,6
CS2	174,8 ± 0,5 ^{c, d}	62,0	3,2	25,0
CW1	190,6 ± 0,9 ^e	58,0	5,6	25,0
CW2	176,4 ± 0,9 ^{a, d}	60,3	5,7	25,7

Nas figuras 30 e 31 estão representados os valores médios de antocianinas livres totais e de antocianinas polimerizadas obtidos para cada amostra (A, B e C).

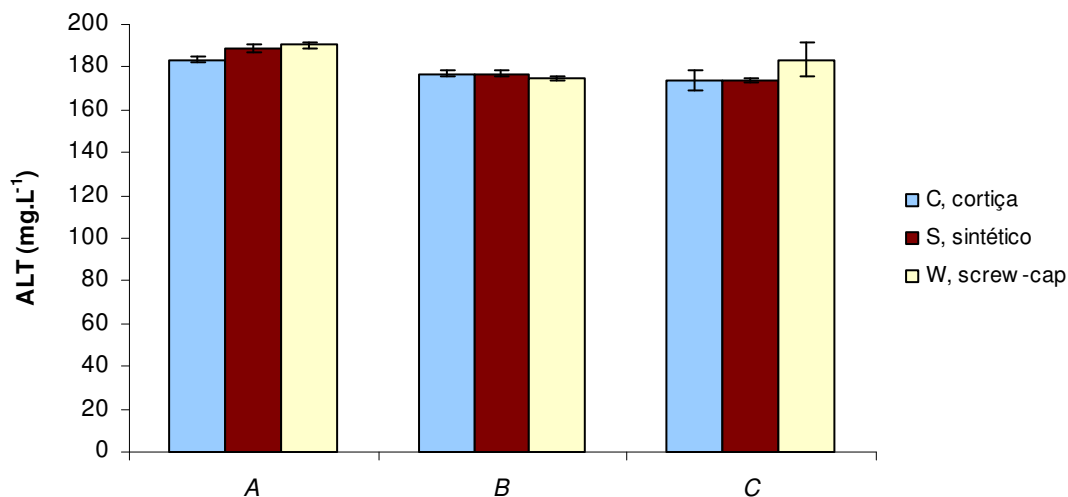


Figura 30. Valores médios de antocianinas livres (ALT, mg.L⁻¹) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.

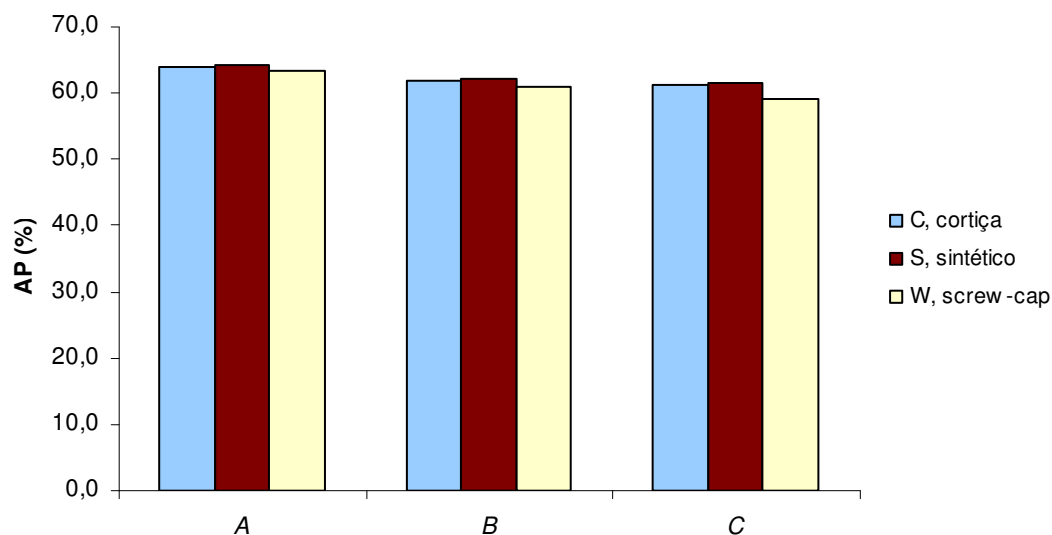


Figura 31. Valores médios de antocianinas polimerizadas (AP, %) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.

De um modo geral não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor em antocianinas livres para os três tipos de vedantes em estudo.

As amostras que apresentam um teor em antocianinas livres superior (vinhos selados com *screw-cap*), evidenciam igualmente uma maior concentração em antocianinas monoglucósidas totais e uma percentagem menor em antocianinas polimerizadas.

Os vinhos selados com vedantes sintéticos, apresentam um maior índice de cor vermelha, índice de cor e um menor teor em antocianinas monoglucósidas totais que os restantes vinhos, o que poderá significar que as antocianinas se encontram complexadas ou na forma polimerizada em maior percentagem nestes vinhos.

Ao longo do processo evolutivo de um vinho, as antocianinas monoméricas vão sendo transformadas, dando origem a novos pigmentos. A análise das antocianinas 3-monoglucósidas foi feita por HPLC, obtendo os cromatogramas no comprimento de onda máximo de absorção das antocianinas (figura 32).

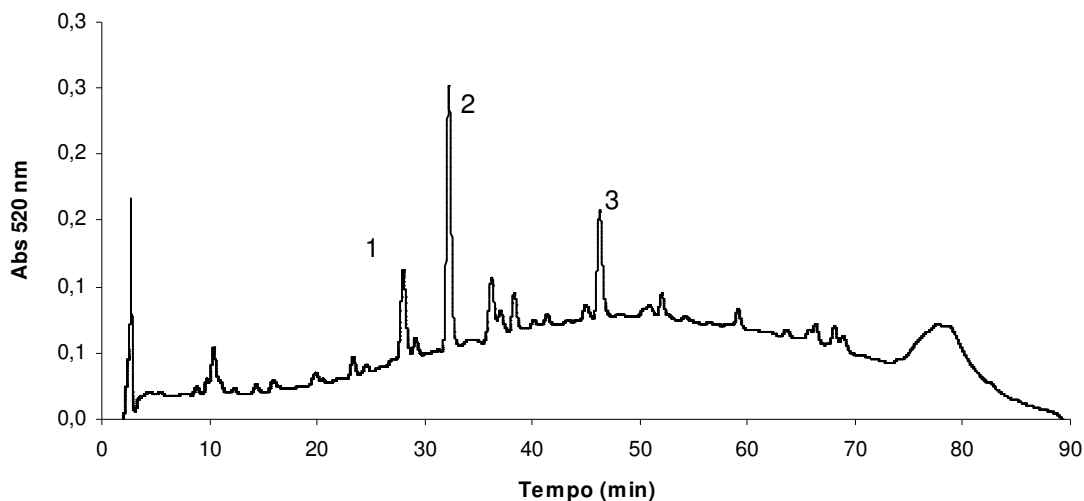


Figura 32. Cromatograma de HPLC das antocianinas presentes no vinho A engarrafado com rolha de cortiça: 1: 3-glucósido de malvidina; 2: derivado pirúvico do 3-glucósido de malvidina; 3: derivado pirúvico do 3-cumaroílglicosido de malvidina.

O perfil cromatográfico obtido é semelhante para os três tipos de vinhos (A, B e C) e para os três tipos de vedantes utilizados (rolha de cortiça, vedante sintético e *screw-cap*). O teor

em antocianinas 3-monoglucósidas é devido à presença do 3-glucósido de malvidina (mv-3-gl), a única antocianina detectada nos vinhos analisados.

A ausência das restantes antocianinas habitualmente presentes no vinho novo é sinónimo de que o vinho sofreu uma grande evolução e que estes compostos foram sendo transformados noutros mais polimerizados e que poderão corresponder aos picos não identificados e à bossa perceptível ao longo de todo o cromatograma (definido pela linha de base).

Os restantes picos existentes no cromatograma deverão corresponder a pigmentos derivados das antocianinas (2, derivado pirúvico do 3-glucósido de malvidina; 3, derivado pirúvico do 3-cumaroílglicosido de malvidina).

Os vinhos engarrafados com vedantes *screw-cap* apresentam uma concentração superior quer em antocianinas totais quer em pigmentos derivados de antocianinas.

1.3. Análise de taninos condensados e índice de diálise

O doseamento dos taninos proantociânicos totais (TPA) baseia-se na reacção de decomposição destes compostos em meio ácido e por acção do calor (reacção Bate-Smith), medindo-se a absorvância das soluções resultantes a 520 nm. Os resultados obtidos para cada amostra estão indicados na tabela 10. Na figura 33 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 10. Composição em taninos proantociânicos totais (TPA) e índice de diálise (I.D) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. Amostras com o mesmo símbolo (#) são estatisticamente diferentes entre si.

Vinhos	TPA (g.L ⁻¹)	I.D
AC1	1,39 ± 0,02 ^a	0,435 ± 0,001 ^a
AC2	1,49 ± 0,04 ^b	0,426 ± 0,001 ^b
AS1	1,42 ± 0,03 ^{a,b}	0,449 ± 0,002 ^c
AS2	1,44 ± 0,02 ^{a,b}	0,431 ± 0,001 ^d
AW1	1,30 ± 0,02 ^c	0,387 ± 0,001 ^e
AW2	1,44 ± 0,01 ^{a,b}	0,433 ± 0,001 ^{a,d}
BC1	1,42 ± 0,04 ^a	0,455 ± 0,002 ^a
BC2	1,44 ± 0,04 ^{a,#}	0,454 ± 0,002 ^a
BS1	1,08 ± 0,02 ^b	0,412 ± 0,002 ^b
BS2	1,18 ± 0,02 ^{b,c}	0,418 ± 0,001 ^b
BW1	1,30 ± 0,03 ^{a,c,#}	0,378 ± 0,002 ^c
BW2	1,29 ± 0,07 ^c	0,373 ± 0,002 ^c
CC1	1,35 ± 0,04 ^a	0,441 ± 0,001 ^a
CC2	1,33 ± 0,06 ^a	0,574 ± 0,002 ^b
CS1	1,33 ± 0,03 ^a	0,421 ± 0,002 ^c
CS2	1,39 ± 0,06 ^{a,#}	0,413 ± 0,002 ^d
CW1	1,24 ± 0,02 ^{a,#}	0,486 ± 0,001 ^e
CW2	1,24 ± 0,01 ^a	0,517 ± 0,001 ^f

De um modo geral, os vinhos selados com rolha de cortiça possuem um teor superior em taninos proantociânicos totais (amostra B).

Para o grupo C, não há diferenças estatisticamente significativas no teor mais em taninos condensados (figura 33).

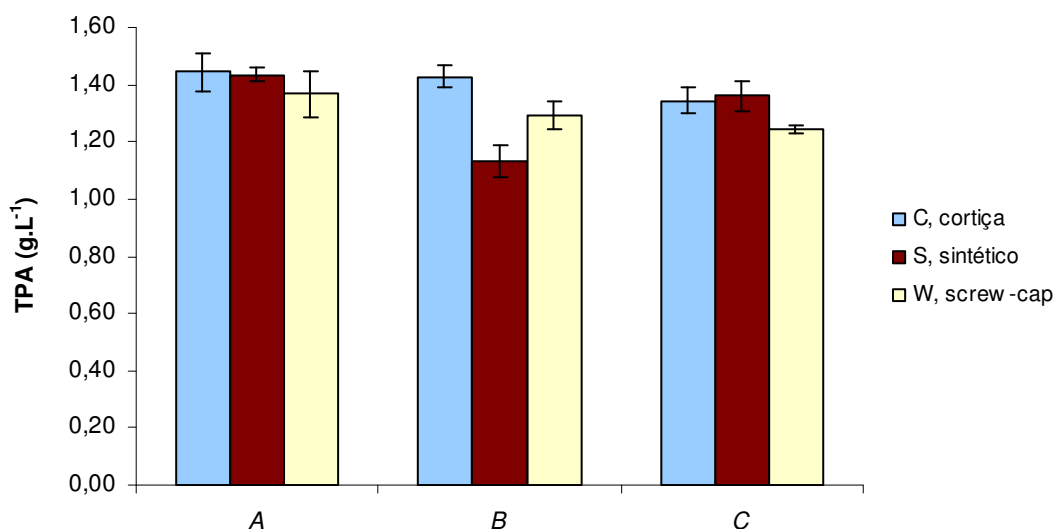


Figura 33. Valores médios de taninos proantociânicos totais (TPA, g.L⁻¹) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.

O índice de diálise (I.D) permite avaliar a complexidade estrutural dos compostos fenólicos presentes num vinho. Os resultados obtidos para cada amostra estão indicados na tabela 10. Na figura 33 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

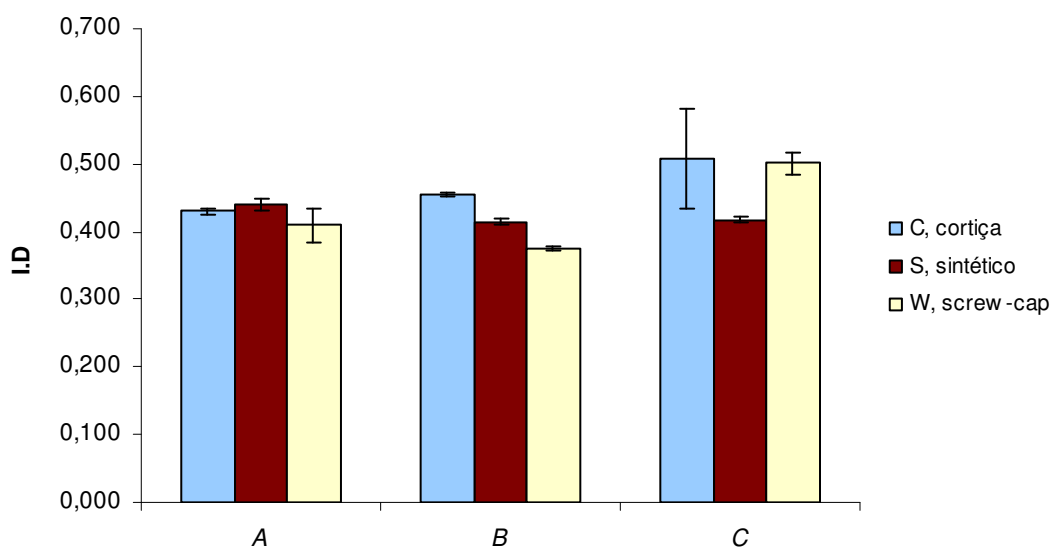


Figura 33. Valores médios do índice de diálise (I.D) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.

A polimerização e o aumento da complexidade estrutural dos compostos fenólicos ao longo da maturação de um vinho em garrafa poderão estar relacionados com a difusão do oxigénio atmosférico para o interior da garrafa. Apesar de ainda não ser totalmente conhecido o mecanismo de difusão do oxigénio para o vinho, estudos efectuados demonstraram que este processo é dependente do tipo de vedante escolhido para selar o vinho. Os vedantes *screw-cap* e as rolhas de cortiça técnicas são muito pouco permeáveis ao oxigénio enquanto que os vedantes sintéticos (Supremecorq[®] e Nomacorc[®]) possuem uma maior permeabilidade. As rolhas de cortiça natural apresentam um valor intermédio (Lopes *et al.*, 2006). Assim, é de esperar que os vinhos selados com *screw-cap* possuam um menor índice de polimerização.

Para os grupos A e B, os vinhos selados com vedantes sintéticos e com rolha de cortiça natural apresentam um índice de diálise superior o que indica que estes vinhos deverão ser estruturalmente mais complexos, possuindo compostos fenólicos com estruturas maiores e mais polimerizadas.

Este comportamento não se verifica para o vinho C uma vez que os vinhos engarrafados com vedante *screw-cap* apresentam um elevado índice de diálise. Os valores obtidos poderão ser resultado de problemas decorrentes durante o engarrafamento. Já para os vinhos engarrafados com rolha de cortiça natural, os resultados obtidos apresentam uma grande dispersão que poderá ser devida à variabilidade da própria cortiça usada na produção das rolhas, conferindo diferentes propriedades ao vedante.

1.4. Doseamento de fenóis totais

O doseamento dos fenóis totais foi efectuado por dois métodos distintos: leitura da absorvância a 280 nm e determinação do índice de Folin-Ciocalteu.

A primeira determinação baseia-se na capacidade dos núcleos benzénicos absorverem radiação na região do ultra-violeta, apresentando um máximo de absorção a 280 nm. A segunda determinação baseia-se na capacidade que os compostos fenólicos possuem de reduzir a mistura dos ácidos fosfotungstino e fosfomolibdico em meio alcalino. Os resultados obtidos para cada amostra estão indicados na tabela 11. Na figura 35 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 11. Composição em fenóis totais (IFT) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C) na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Vinhos	IFT (Abs 280 nm)	IFT (g equi. catequina.L ⁻¹)
AC1	76,8 ± 0,1 ^a	3,24 ± 0,02 ^a
AC2	80,4 ± 0,2 ^b	3,15 ± 0,01 ^b
AS1	77,8 ± 0,06 ^c	3,20 ± 0,01 ^{a,b,c}
AS2	71,6 ± 0,1 ^d	3,18 ± 0,03 ^{b,c}
AW1	76,9 ± 0,1 ^a	3,33 ± 0,02 ^e
AW2	76,03 ± 0,06 ^e	3,24 ± 0,02 ^{a,c}
BC1	66,2 ± 0,2 ^a	2,67 ± 0,01 ^a
BC2	67,5 ± 0,2 ^b	2,81 ± 0,01 ^b
BS1	65,53 ± 0,06 ^c	2,73 ± 0,01 ^c
BS2	65,1 ± 0,1 ^{c,d}	2,69 ± 0,01 ^a
BW1	67,0 ± 0,2 ^b	2,74 ± 0,01 ^c
BW2	64,7 ± 0,2 ^e	2,65 ± 0,01 ^a
CC1	67,3 ± 0,1 ^a	2,87 ± 0,01 ^a
CC2	68,9 ± 0,4 ^b	2,83 ± 0,02 ^b
CS1	68,1 ± 0,2 ^c	2,73 ± 0,01 ^c
CS2	67,1 ± 0,2 ^a	2,75 ± 0,01 ^{c,d}
CW1	66,5 ± 0,1 ^d	2,61 ± 0,01 ^e
CW2	67,1 ± 0,1 ^a	2,79 ± 0,01 ^d

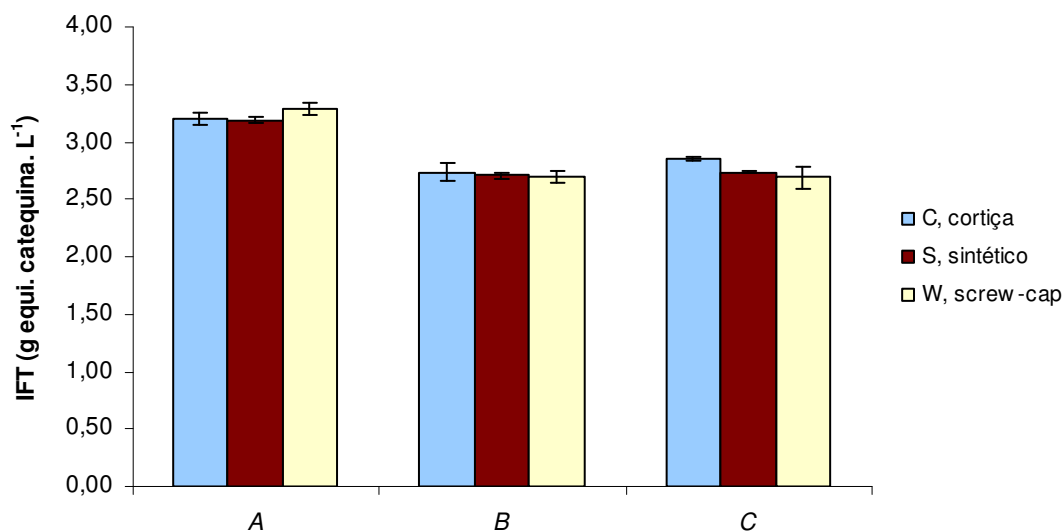


Figura 35. Valores médios do índice de fenóis totais (IFT; g equi. catequina.L⁻¹) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.

De um modo geral, na determinação dos fenóis totais por medição da absorvância a 280 nm, vinhos com rolha de cortiça apresentam um maior teor. Apesar de existir pouca informação relativa a este tema, uma das hipóteses que poderá explicar o ligeiro aumento da concentração em compostos fenólicos dos vinhos engarrafados com rolha de cortiça poderá corresponder à extracção destes compostos da cortiça para o vinho.

Idêntico resultado foi obtido pelo método Folin-Ciocalteu, excepto para o vinho A, em que vinhos com rolha *screw-cap* apresentam um maior teor em fenóis totais.

1.5. Poder tanante e teor em polissacáridos

Os taninos do vinho possuem a capacidade de interagirem com as proteínas salivares formando complexos insolúveis, propriedade que está na origem da sensação de adstringência. A proteína ASB (Albumina Sérica Bovina) tem sido utilizada como modelo para estudar a capacidade tanante dos taninos em matrizes alimentares.

O poder tanante dos vinhos foi determinado por nefelometria e os resultados obtidos para cada amostra estão indicados na tabela 12. Na figura 36 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 12. Poder tanante e teor e polissacáridos dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho do Porto tinto (colheita 2003) analisado ao fim de 2 anos de engarrafamento. Para cada grupo de amostras (A, B e C), na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Vinhos	PT (NTU.mL ⁻¹ vinho)	Polissacáridos (g.L ⁻¹)
AC1	123 ± 3 ^a	0,225 ± 0,006 ^a
AC2	126 ± 1 ^a	0,225 ± 0,003 ^a
AS1	127 ± 4 ^a	0,233 ± 0,003 ^a
AS2	126 ± 3 ^a	0,204 ± 0,005 ^b
AW1	136 ± 4 ^b	0,235 ± 0,003 ^a
AW2	129 ± 3 ^{a,b}	0,195 ± 0,007 ^b
BC1	118 ± 3 ^a	0,23 ± 0,01 ^a
BC2	115 ± 4 ^a	0,26 ± 0,01 ^{a,b}
BS1	131 ± 5 ^b	0,22 ± 0,01 ^{a,c}
BS2	135 ± 3 ^b	0,234 ± 0,002 ^{a,b,c}
BW1	121 ± 4 ^a	0,202 ± 0,003 ^c
BW2	115 ± 5 ^a	0,21 ± 0,01 ^{a,c}
CC1	117 ± 3 ^a	0,233 ± 0,009 ^a
CC2	118 ± 1 ^a	0,242 ± 0,007 ^b
CS1	125 ± 3 ^{a,b}	0,212 ± 0,007 ^c
CS2	130 ± 4 ^b	0,210 ± 0,009 ^c
CW1	120 ± 3 ^{a,b}	0,204 ± 0,002 ^c
CW2	119 ± 5 ^{a,b}	0,207 ± 0,006 ^c

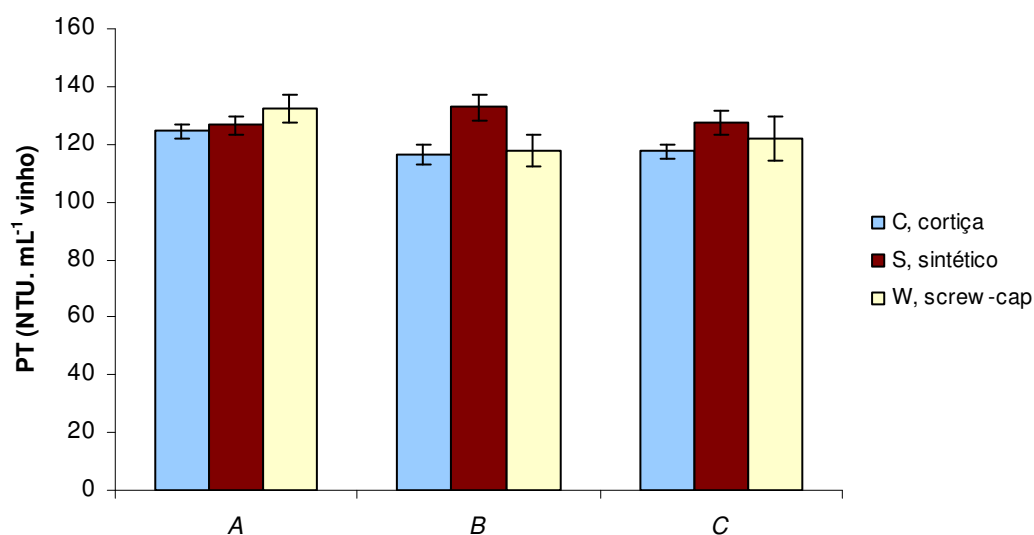


Figura 36. Valores médios de poder tanante (PT; NTU. mL⁻¹ vinho) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) determinados ao fim de 2 anos de engarrafamento.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos apresentam um maior poder tanante, excepto para o vinho A em que a amostra engarrafada com *screw-cap* é a que apresenta um valor mais elevado. Seria de esperar que os vinhos com um maior índice de compostos fenólicos e de taninos condensados que poderão interagir com as proteínas, possuíssem um maior poder tanante.

No caso do vinho B, o teor em taninos condensados e o índice de diálise (tabela 10) é superior para os vinhos selados com cortiça e por isso seria de esperar que estes vinhos possuíssem um maior poder tanante. No entanto, e apesar do menor teor em taninos condensados, o vinho selado com vedante sintético foi o que apresentou um maior poder tanante.

Para a amostra C, apesar de os vinhos engarrafados com rolhas de cortiça e com *screw-cap* apresentarem um índice de diálise superior, o seu poder tanante é menor. Um maior índice de diálise indica uma maior polimerização dos compostos fenólicos e por essa razão as interacções entre os taninos e as proteínas salivares poderão ter sido dificultadas por impedimentos estereoquímicos.

O poder tanante dos vinhos pode também ser influenciado pelo teor em polissacáridos dos mesmos. A presença de quantidades elevadas de polissacáridos nos vinhos poderá levar a uma perda da adstringência por impedimento da interacção dos taninos do vinho com as proteínas salivares. No caso dos vinhos selados com rolha de cortiça, apesar do teor superior em taninos condensados e em fenóis totais (tabela 10 e 11, respectivamente) que poderiam reagir com as proteínas, a concentração superior em polissacáridos evidenciada por estes vinhos poderá conduzir a uma perda do poder tanante, traduzindo-se em vinhos potencialmente menos adstringentes.

Os polissacáridos são um dos principais grupos de macromoléculas constituintes dos vinhos. São considerados colóides protectores uma vez que previnem e limitam a formação de sais de tartarato e a agregação e a floculação com a consequente formação de turvação (Pellerin & Cabanins, 1998). Para além disto, os polissacáridos dos vinhos influenciam a fermentação e interagem com compostos aromáticos (Lubbers & Charpentier, 1994; Dufour & Bayanove, 1999). Estes compostos contribuem também para as propriedades organolépticas dos vinhos uma vez que estabilizam o aroma e a cor. Como foi referido anteriormente, os polissacáridos poderão reduzir a sensação de adstringência ao impedirem a interacção com as proteínas salivares.

O doseamento do teor em polissacáridos dos vinhos foi feito por nefelometria e os resultados obtidos estão reunidos na tabela 12. Na figura 37 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

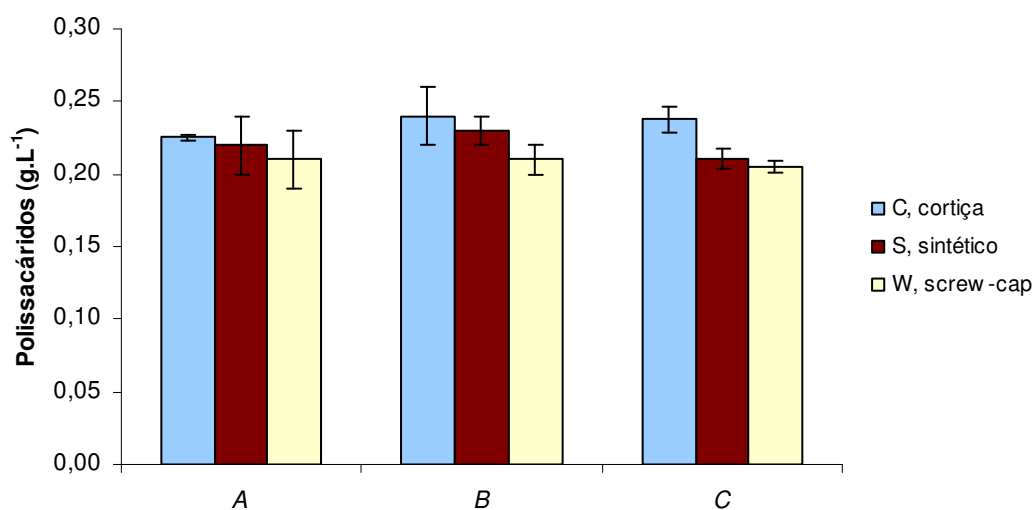


Figura 37. Valores médios do teor em polissacáridos (g.L^{-1}) dos vinhos A, B e C engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; S, sintético; W, *screw-cap*) ao fim de 2 anos de engarrafamento.

Para o grupo C, vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem um maior teor em polissacáridos, seguindo-se os vinhos engarrafados com vedante sintético e com *screw-cap*. Para os restantes grupos de amostras não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre vedantes.

A aparente diminuição do teor em polissacáridos dos vinhos selados com vedantes sintéticos e com *screw-cap* poderá ser resultado de fenómenos de precipitação dos polissacáridos livres ou então complexados com antocianinas e outros polifenóis, como resultado de fenómenos oxidativos. Nos vinhos com mais oxigénio, estes fenómenos podem ocorrer em maior extensão.

Por outro lado, a composição química da cortiça pode também ser fundamental para o incremento do teor em polissacáridos. A ruptura das macromoléculas de celulose e hemicelulose e consequente extracção destes compostos para os vinhos durante o envelhecimento, pode levar ao aumento do teor em açúcares dos vinhos selados com vedantes de cortiça comparativamente aos vinhos engarrafados com outro tipo de vedantes.

1.6. Conclusão

Neste ensaio da interacção vinho-vedante, verificou-se que os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos apresentaram um maior índice de cor vermelha e um maior índice de cor. Este aumento foi acompanhado por uma diminuição da luminosidade (L^*), traduzindo-se em vinhos mais opacos.

Estes vinhos possuem igualmente uma maior absorvância a 420 nm e um valor superior das coordenadas colorimétricas b^* e H^o , o que indicia um desvio para tonalidades mais alaranjadas, resultado de fenómenos oxidativos decorridos durante a maturação.

No que diz respeito ao índice de diálise, os vinhos selados com vedantes sintéticos e com rolha de cortiça apresentam um valor superior, o que indica que estes vinhos poderão ser estruturalmente mais complexos.

Apesar dos vinhos engarrafados com *screw-cap* possuírem um menor índice de cor que os restantes vinhos possuem um teor superior antocianinas 3-monoglucósidas e em pigmentos derivados de antocianinas.

De um modo geral, vinhos selados com rolha de cortiça natural possuem um teor ligeiramente superior em compostos fenólicos e em polissacáridos.

No doseamento dos taninos proantociânicos totais não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os vinhos engarrafados com diferentes tipos de vedantes.

2. Ensaio de rolha de cortiça vs vedantes sintéticos (com e sem tratamento de superfície) em vinhos tintos de mesa (colheita 1997)

Neste segundo estudo da interacção vinho-vedante, utilizaram-se vinhos de mesa produzidos na colheita de 1997 (vinho D). Estes vinhos foram mantidos em garrafa durante 8 anos, tendo sido selado com três tipos de vedantes diferentes: vedantes sintético com e sem tratamento de superfície (Supremecorq[®]) e rolha de cortiça natural. Cada ensaio foi efectuado em duplicado.

2.1. Características cromáticas

Os resultados obtidos para o índice de cor vermelha (ICV) e para o índice de cor (IC) dos vinhos D encontram-se resumidos na tabela 13. Nas figuras 38 a 40 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 13. Absorvância a 420, 520 (ICV) e 620 nm e índice de cor (IC) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	Abs 420 nm	% 420 nm	Abs 520 nm	% 520 nm	Abs 620 nm	% 620 nm	IC
DT1	0,303 ± 0,002 ^a	46,2	0,289 ± 0,003 ^a	44,1	0,064 ± 0,003 ^a	9,8	0,656 ± 0,002 ^a
DT2	0,283 ± 0,002 ^b	46,9	0,261 ± 0,002 ^b	43,2	0,059 ± 0,001 ^a	9,8	0,603 ± 0,004 ^b
DS1	0,303 ± 0,003 ^a	43,5	0,323 ± 0,002 ^c	46,4	0,070 ± 0,002 ^b	10,1	0,696 ± 0,004 ^c
DS2	0,302 ± 0,004 ^a	43,0	0,328 ± 0,002 ^c	46,7	0,074 ± 0,001 ^b	10,5	0,703 ± 0,004 ^d
DC1	0,297 ± 0,003 ^a	43,9	0,308 ± 0,003 ^d	45,5	0,072 ± 0,001 ^b	10,6	0,677 ± 0,002 ^e
DC2	0,298 ± 0,002 ^a	43,8	0,311 ± 0,003 ^d	45,7	0,071 ± 0,002 ^b	10,4	0,681 ± 0,001 ^e

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície (amostras DS) apresentam um maior índice de cor vermelha (abs 520 nm), seguindo-se os vinhos engarrafados com rolha de cortiça (amostras DC) e com vedantes sintéticos com tratamento de superfície (amostras DT) (figura 38). Apesar de se tratarem de vedantes

diferentes, esta tendência já tinha sido verificada no primeiro ensaio em que os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos apresentavam um maior ICV e IC.

Tal como se verificou no ensaio anterior, os vinhos que apresentam um maior índice de cor vermelha (vinhos DS) possuem uma concentração em antocianinas 3-monoglucósidas menor (tabela 15). Assim, o maior índice de cor evidenciado por estes vinhos poderá ser resultado de fenómenos de copigmentação uma vez que estes vinhos possuem uma concentração superior em compostos fenólicos que poderão actuar como copigmentos (tabela 17).

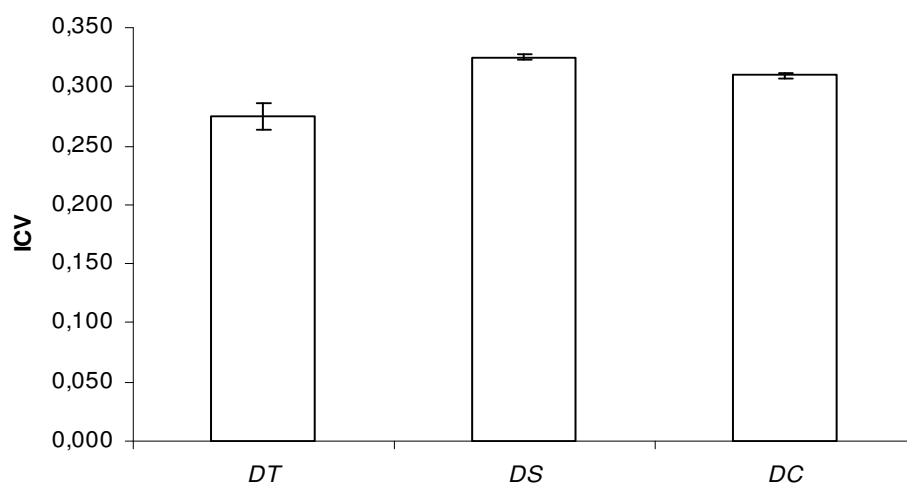


Figura 38. Índice de cor vermelha (abs 520 nm) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) obtido ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície (DT) possuem uma maior contribuição da absorvância a 420 nm para a intensidade corante dos vinhos (aproximadamente 47%), evidenciando um desvio para a região dos amarelos/castanhos.

Os vinhos engarrafados com vedantes de cortiça (DC) apresentam uma menor absorvância a 420 nm, não se verificando diferenças estatisticamente significativas entre estes vinhos e os vinhos selados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície (figura 39).

A contribuição superior da absorvância a 420 nm para a cor final evidenciada pelos vinhos selados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície, poderá indicar uma maior

permeabilidade destes vedantes ao oxigénio, resultando num aceleração dos fenómenos oxidativos.

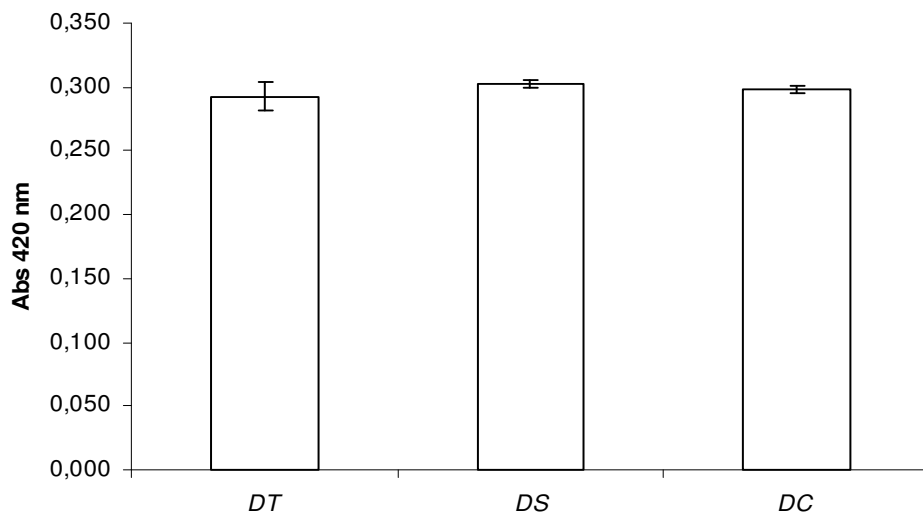


Figura 39. Absorvância a 420 nm dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) obtida ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Quanto ao índice de cor (figura 40), o comportamento evidenciado é igual ao referido para o índice de cor vermelha.

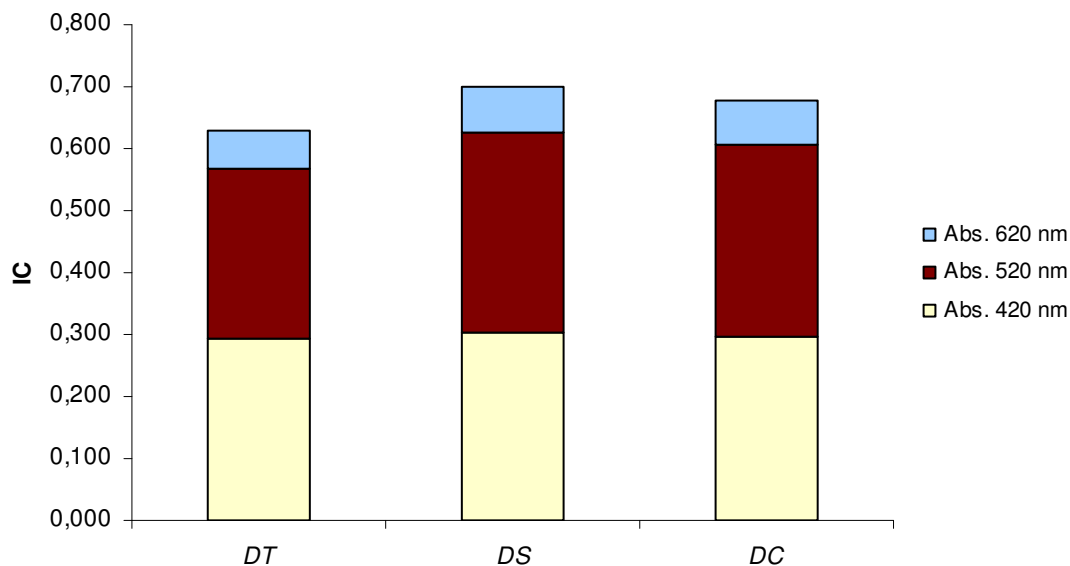


Figura 40. Índice de cor dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) obtida ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Os resultados obtidos na análise dos componentes colorimétricos dos vinhos estão reunidos na tabela 14. Nas figuras 41 a 43 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 14. Parâmetros colorimétricos dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. Amostras com o mesmo símbolo (# ou *) são estatisticamente diferentes entre si.

Amostras	L*	a*	b*	C*	Hº
DT1	70,50 ± 0,05 ^a	26,65 ± 0,02 ^a	22,98 ± 0,02 ^a	35,19 ± 0,01 ^a	40,78 ± 0,05 ^a
DT2	73,86 ± 0,06 ^b	23,99 ± 0,04 ^b	21,84 ± 0,06 ^b	32,44 ± 0,07 ^b	42,32 ± 0,03 ^b
DS1	67,95 ± 0,01 ^c	29,84 ± 0,01 ^c	15,13 ± 0,02 ^c	33,45 ± 0,01 ^c	26,88 ± 0,03 ^c
DS2	67,50 ± 0,20 ^d	30,00 ± 0,20 ^{c,#}	15,20 ± 0,10 ^c	33,70 ± 0,20 ^c	26,88 ± 0,01 ^c
DC1	67,90 ± 0,10 ^c	29,90 ± 0,10 ^{c,#,*}	14,80 ± 0,05 ^d	33,40 ± 0,10 ^c	26,31 ± 0,03 ^d
DC2	68,19 ± 0,08 ^c	29,62 ± 0,08 ^{c,*}	14,60 ± 0,08 ^e	33,00 ± 0,10 ^d	26,25 ± 0,06 ^d

De um modo geral, verifica-se que a utilização de vedantes sintéticos com tratamento de superfície conferiu importantes diferenças nas componentes colorimétricas analisadas.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície (amostra DT) apresentam um valor de L* superior (maior luminosidade e claridade da cor), o que significa que estes vinhos apresentam um menor índice de cor (figura 41). De facto, como foi referido no ponto anterior, estes vinhos possuem um menor índice de cor vermelha e menor índice de cor. No caso da amostra DT2, o menor índice de cor evidenciado foi acompanhado por um aumento mais significativo do parâmetro colorimétrico L*.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície (amostra DS) e com vedantes de cortiça natural (amostra DC) apresentam um valor de L* inferior, o que se traduz em vinhos mais opacos e com uma maior intensidade corante.

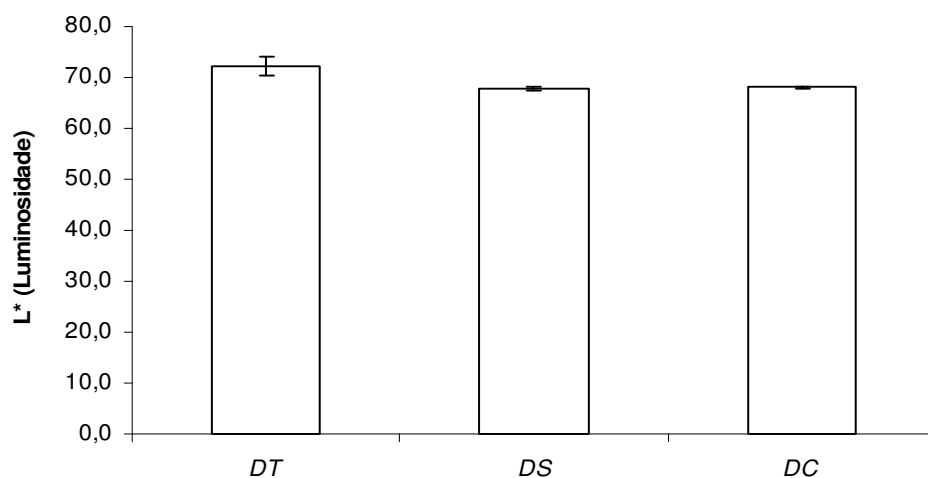


Figura 41. Parâmetro L* (luminosidade) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.

No que diz respeito à coordenada cromática b^* , os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície, apresentam um valor bastante mais elevado, enquanto que os restantes vinhos apresentam valores mais baixos (figura 42). O aumento desta coordenada indica um desvio da cor no sentido da tonalidade amarela, que é confirmado pelo aumento da contribuição da absorvância a 420 nm para a intensidade corante (tabela 13; figura 43).

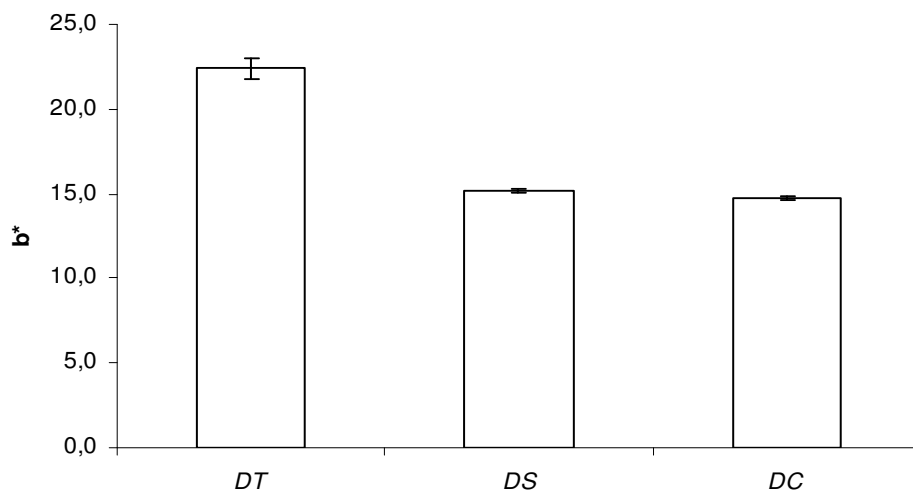


Figura 42. Parâmetro b^* dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.

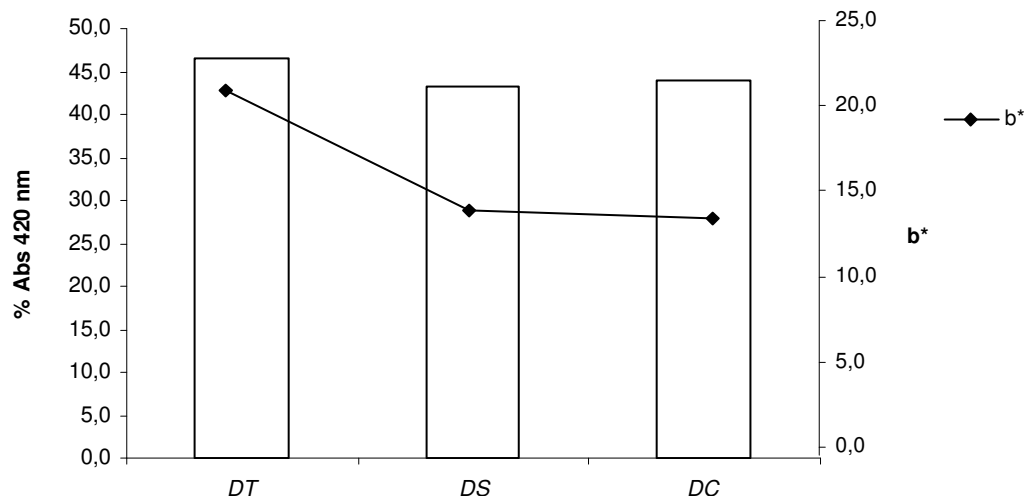


Figura 43. Parâmetro b^* e % abs a 420 nm dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinados ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Quanto às coordenadas a^* e H° , também se verificam diferenças entre os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície e as restantes amostras. Os primeiros vinhos apresentam um valor de H° bastante superior, o que indica que a tonalidade está mais deslocada no sentido da cor laranja. Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície e com rolha de cortiça possuem valores de a^* superiores, o que indica que estes vinhos apresentam um desvio no sentido da tonalidade vermelha.

2.2. Análise de antocianinas

Os resultados obtidos para o índice de antocianinas livres (ALT), antocianinas polimerizadas (AP), antocianinas monoglucósidas (AMT) e pigmentos derivados das antocianinas (PDA) dos vinhos D estão descritos na tabela 15. Nas figuras 44 a 48 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 15. Composição em antocianinas livres (ALT), antocianinas polimerizadas (AP), antocianinas monoglucósidas (AMT) e pigmentos derivados das antocianinas (PDA) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostra	ALT (mg.L ⁻¹)	AP (%)	AMT (mg.L ⁻¹)	PDA (mg.L ⁻¹)
DT1	47,0 ± 0,5 ^a	66,7	0,19	2,49
DT2	46,5 ± 0,8 ^a	65,8	0,12	2,32
DS1	58,8 ± 0,5 ^b	63,8	0,40	3,12
DS2	59,3 ± 0,8 ^b	62,8	0,47	3,10
DC1	64,4 ± 0,5 ^c	59,5	1,06	3,19
DC2	63 ± 1 ^c	61,2	1,09	3,16

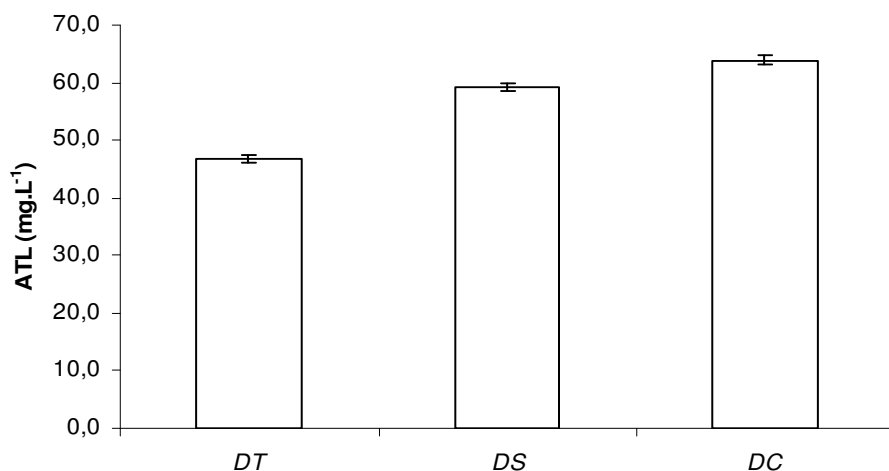


Figura 44. Antocianinas livres (ALT; mg.L⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinadas ao fim de 8 anos de engarrafamento.

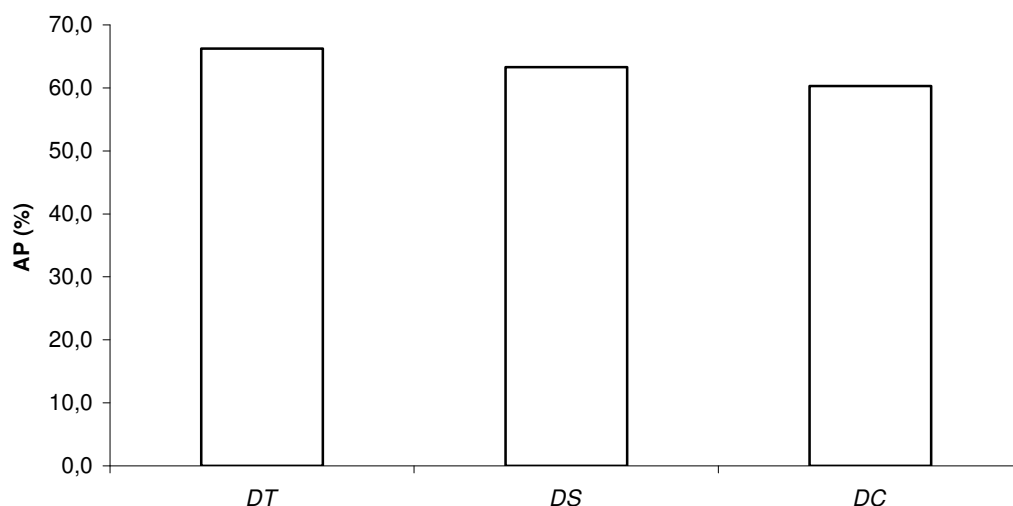


Figura 45. Antocianinas polimerizadas (AP; %) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinadas ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Os vinhos engarrafados com rolha de cortiça apresentam uma concentração superior em antocianinas livres totais, enquanto que os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície são os que apresentam um teor mais reduzido, devendo possuir um teor inferior em antocianinas monoméricas.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície apresentam um maior índice de cor vermelha e simultaneamente um teor em antocianinas livres inferior, o que poderá significar que as antocianinas se encontram complexadas ou na forma polimerizada em maior percentagem nestes vinhos (figura 45).

Estes resultados poderão estar relacionados com as diferentes propriedades de barreira ao oxigénio evidenciadas por cada vedante. Como já foi referido anteriormente, estudos efectuados com vedantes semelhantes aos usados neste ensaio, demonstraram que os vedantes sintéticos são mais permeáveis à passagem do oxigénio, podendo promover reacções de polimerização entre compostos fenólicos.

Estes resultados mostram ainda diferenças significativas no teor em antocianinas livres nos vinhos selados com os dois tipos de vedantes sintéticos (com e sem tratamento de superfície), indicando uma maior polimerização das antocianinas dos primeiros vinhos.

Os vinhos utilizados neste ensaio são vinhos da colheita de 1997, tendo sido analisados ao fim de 8 anos de engarrafamento. Como tal, apresentam um elevado estado de maturação e por esta razão praticamente todas as antocianinas monoméricas foram transformadas em novos pigmentos mais polimerizados. O perfil cromatográfico obtido na análise das antocianinas monoglucósidas totais é apresentado na figura 46.

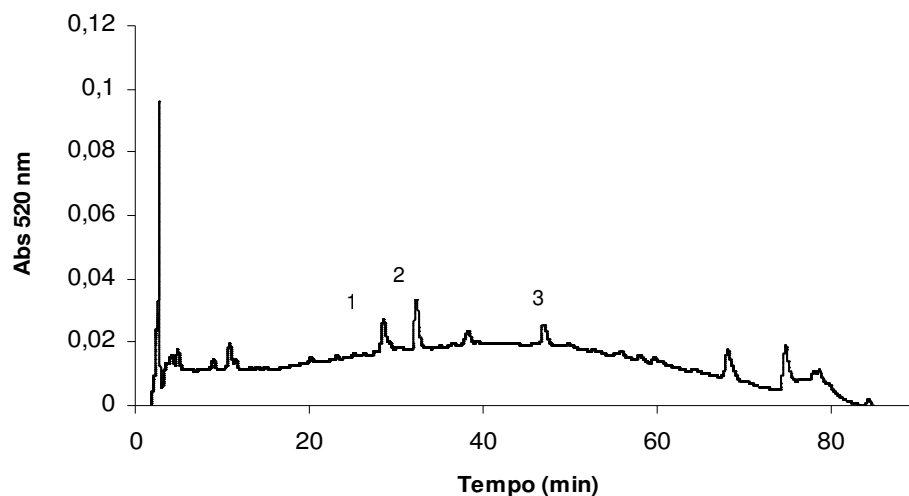


Figura 46. Cromatograma de HPLC das antocianinas presentes no vinho D engarrafado com rolha de cortiça: 1: 3-glucósido de malvidina; 2: derivado pirúvico do 3-glucósido de malvidina; 3: derivado pirúvico do 3-cumaróilglucósido de malvidina.

O perfil cromatográfico obtido é semelhante para os três tipos de vedantes utilizados (vedante sintético com e sem tratamento de superfície e rolha de cortiça).

A ordem relativa da concentração das antocianinas monoglucósidas entre as diferentes amostras é a mesma observada para as antocianinas livres (figura 44). Assim, os vinhos selados com rolha de cortiça evidenciam uma concentração em antocianinas totais superior aos restantes vinhos (figura 47).

Tal como no ensaio anterior, o 3-glucósido de malvidina (mv-3-gl) foi a única antocianina monomérica detectada.

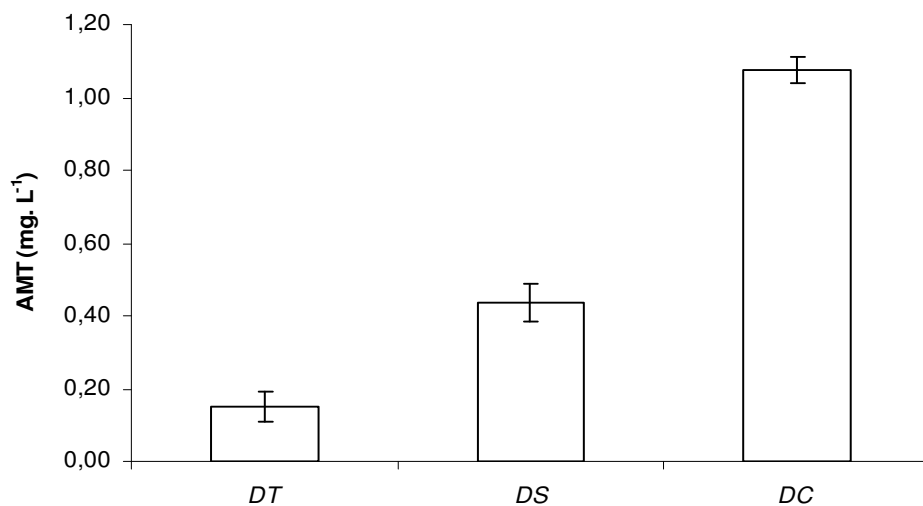


Figura 47. Antocianinas monoglucósidas (AMT; mg.L⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinadas ao fim de 8 anos de engarrafamento.

No que diz respeito aos pigmentos derivados de antocianinas (PDA; figura 48), os vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem um teor superior. No caso dos vinhos selados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície (amostras DT), a proporção existente entre as antocianinas monoglucósidas e os pigmentos derivados de antocianinas é superior, o que indicia uma maior evolução deste vinho.

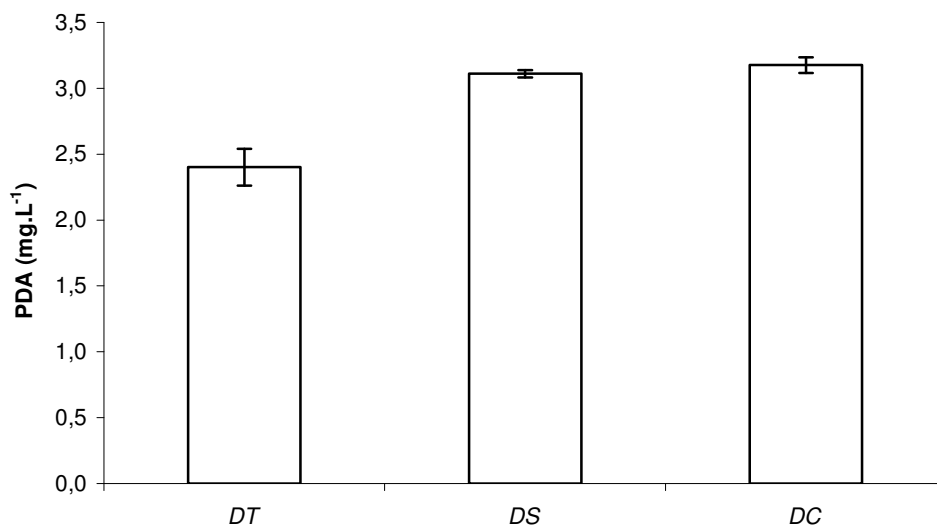


Figura 48. Pigmentos derivados de antocianinas (PDA; mg.L⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinados ao fim de 8 anos de engarrafamento.

2.3. Análise dos flavan-3-óis

A composição dos vinhos em flavan-3-óis é apresentada na tabela 16. Na figura 49 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 16. Composição em catequinas e em procianidinas oligoméricas dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento.

FLAVAN-3-OL	DT1	DT2	DS1	DS2	DC1	DC2
B1 (mg.L ⁻¹)	3,40	3,23	6,24	6,26	11,23	10,58
B2 (mg.L ⁻¹)	0,35	0,33	0,68	0,84	1,30	1,01
B3 (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B4 (mg.L ⁻¹)	0,11	0,35	0,46	0,92	0,72	0,54
B5 (mg.L ⁻¹)	nd	nd	0,96	1,10	1,28	1,60
B6 (mg.L ⁻¹)	0,06	0,05	0,04	0,06	0,09	0,08
B7 (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd	nd	nd
B8 (mg.L ⁻¹)	0,25	0,10	0,13	0,19	0,26	0,21
B2-galhato (mg.L ⁻¹)	0,56	0,37	0,39	0,34	0,72	0,75
C1 (mg.L ⁻¹)	0,35	0,50	0,64	0,26	0,38	0,41
Total (oligómeros) (mg.L⁻¹)	5,10	4,94	9,52	9,97	15,98	15,17
(+)-catequina (mg.L ⁻¹)	9,57	11,29	9,98	10,73	10,84	11,36
(-)-epicatequina (mg.L ⁻¹)	2,60	2,55	3,34	3,20	4,37	5,07
(-)-epicatequina-galhato (mg.L ⁻¹)	0,17	0,14	nd	0,11	0,23	0,22
Total (catequinas) (mg.L⁻¹)	12,52	13,98	13,33	14,04	15,44	16,65
Total (oligómeros e catequinas) (mg.L⁻¹)	17,62	18,92	22,84	24,01	31,43	31,83

nd: não detectado

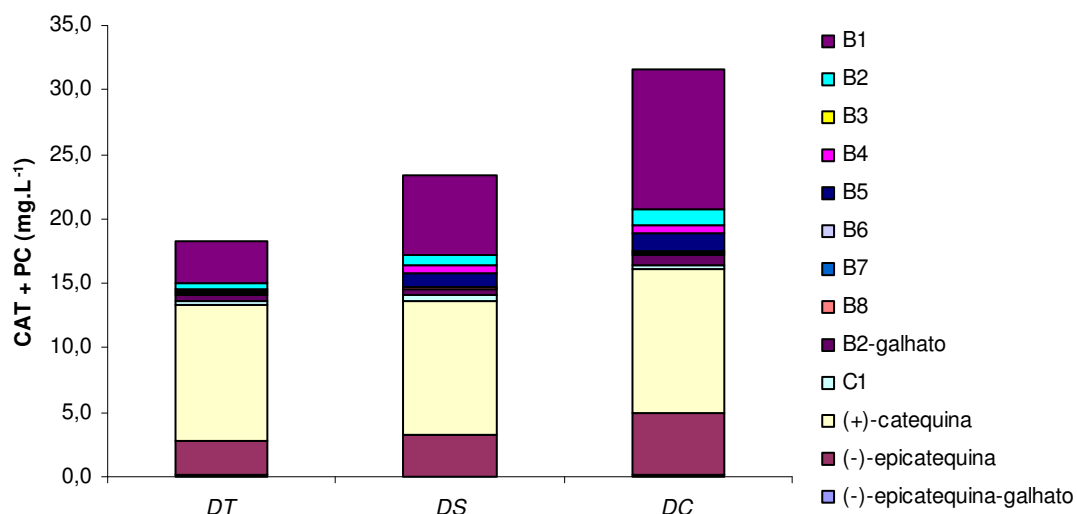


Figura 49. Catequinas e procianidinas oligoméricas dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinadas ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Por comparação das amostras analisadas, verifica-se que os vinhos selados com rolha de cortiça natural apresentam maiores valores de concentração em flavan-3-óis monoméricos, procianidinas diméricas e trímero C1. Seguem-se os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície e com tratamento de superfície.

O dímero B1 é a procianidina mais abundante, seguindo-se o dímero B5 (excepto para as amostras DT). O trímero C1 e a B2-galhato também têm uma contribuição importante para a concentração de oligómeros. Os dímeros B8 e B6 estão presentes em quantidades muito baixas, não sendo detectadas as procianidinas B3 e B7.

As procianidinas detectadas em maiores quantidades foram os dímeros com ligação interflavónica C₄-C₈. Estes dímeros são os que mais contribuem para a concentração total de flavan-3-óis. Os oligómeros com ligação interflavónica C₄-C₆ (B5, B6, B7 e B8) foram detectados em quantidades muito pequenas, com excepção do dímero B5 que se encontra em concentrações superiores.

Relativamente aos flavan-3-óis monoméricos, a (+)-catequina é o monómero que surge em maior quantidade, seguido da (-)-epicatequina e da (-)-epicatequina-galhato, que se encontra em concentrações bastante inferiores.

Para todos os vinhos, excepto para o vinho DC1, a concentração em unidades oligoméricas (procianidinas diméricas e trímero C1) é superior à concentração dos flavan-3-óis monoméricos.

2.4. Análise de taninos condensados, índice de diálise e índice de fenóis totais

Os resultados obtidos no doseamento de taninos proantociânicos totais (TPA) dos vinhos D são apresentados na tabela 17. Na figura 50 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 17. Composição em taninos proantociânicos totais (TPA), índice de diálise (I.D) e índice de fenóis totais (IFT) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	TPA (g.L ⁻¹)	ID	IFT
DT1	0,74 ± 0,06 ^a	0,305 ± 0,002 ^a	45,9 ± 0,2 ^a
DT2	0,7 ± 0,1 ^a	0,331 ± 0,003 ^b	43,8 ± 0,2 ^b
DS1	0,86 ± 0,03 ^a	0,310 ± 0,003 ^{a,c}	48,5 ± 0,2 ^c
DS2	0,84 ± 0,08 ^a	0,316 ± 0,001 ^c	48,6 ± 0,3 ^c
DC1	0,75 ± 0,03 ^a	0,239 ± 0,004 ^d	47,9 ± 0,3 ^c
DC2	0,80 ± 0,02 ^a	0,235 ± 0,003 ^d	47,1 ± 0,1 ^c

Para os três tipos de vedantes estudados não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor em taninos proantociânicos totais (figura 50).

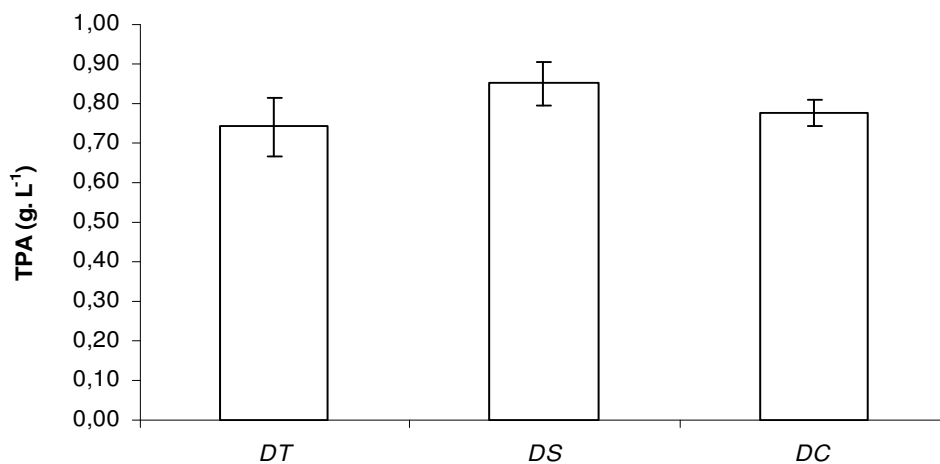


Figura 50. Taninos proantociânicos totais (TPA; g.L⁻¹) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinados ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Os resultados referentes ao índice de diálise (I.D) dos vinhos D encontram-se na tabela 17. Na figura 51 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

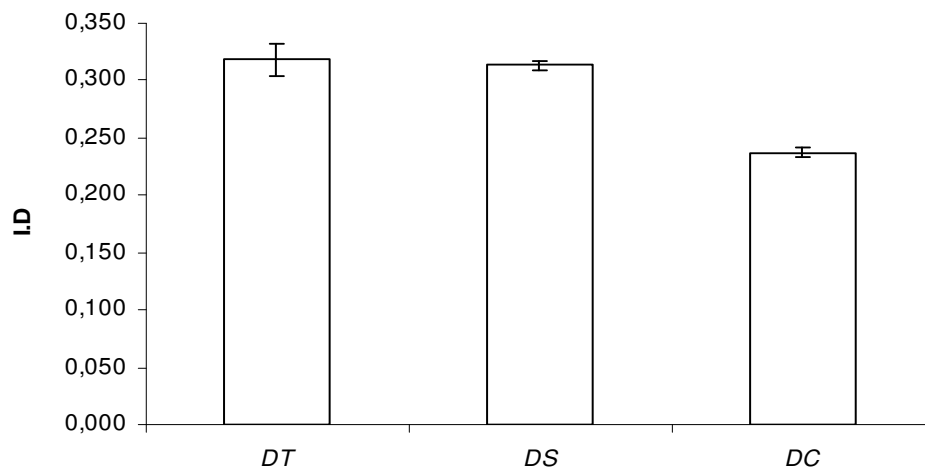


Figura 51. Índice de diálise (I.D) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.

No que diz respeito ao índice de diálise, os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos são os que apresentam um maior valor. Os vinhos selados com rolha de cortiça natural

possuem um menor índice de diálise, o que poderá indicar que estes vinhos são estruturalmente mais simples. Estes vinhos possuem taninos estruturalmente mais simples, isto é de baixo peso molecular, atendendo ao facto de que apresentam um teor mais elevado em procianidinas oligoméricas e simultaneamente uma concentração mais baixa em taninos condensados e um menor índice de diálise (tabela 17). Para além disto, possuem uma concentração superior em antocianinas monoméricas.

Como se referiu anteriormente, estes resultados poderão dever-se a uma menor permeabilidade ao oxigénio evidenciada pelas rolhas de cortiça. Já os vedantes sintéticos apresentam uma maior permeabilidade condicionando as reacções de polimerização entre os diferentes compostos fenólicos (Lopes *et al.*, 2006).

O índice de fenóis totais foi determinado medindo-se a absorvância a 280 nm. Os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela 17. Na figura 52 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

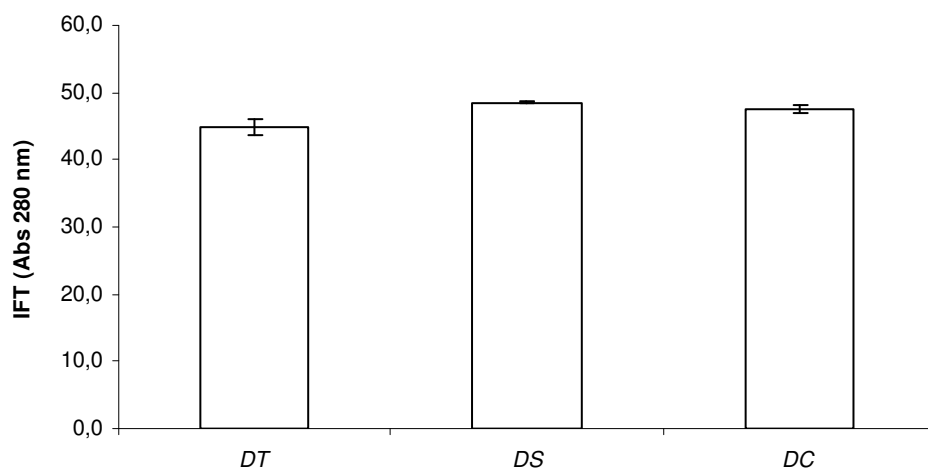


Figura 52. Índice de fenóis totais (IFT; abs 280 nm) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície apresentam uma maior concentração em compostos fenólicos, seguindo-se os vinhos selados com rolha de cortiça. Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície (DT) possuem um teor mais reduzido.

2.5. Análise do poder tanante e teor em polissacáridos

Os resultados obtidos para o poder tanante (PT) dos vinhos D encontram-se na tabela 18. Na figura 53 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Tabela 18. Poder tanante (PT) e teor em polissacáridos dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	PT (NTU.mL ⁻¹)	Polissacáridos (g.L ⁻¹)
D11	129 ± 4 ^a	0,23 ± 0,01 ^a
D12	171 ± 9 ^b	0,23 ± 0,01 ^a
D21	188 ± 8 ^c	0,20 ± 0,01 ^{a,b}
D22	186 ± 10 ^{b,c}	0,19 ± 0,01 ^b
D31	189 ± 4 ^c	0,18 ± 0,01 ^b
D32	183 ± 6 ^b	0,18 ± 0,02 ^b

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície e com rolha de cortiça natural apresentam um maior tanante (figura 53).

Apesar dos vinhos selados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície possuírem um teor inferior em flavan-3-óis (figura 49) e um índice de diálise bastante superior comparativamente com os vinhos selados com rolha de cortiça (figura 51), o que indicaria polifenóis mais complexos e por isso com maior afinidade para se ligar às proteínas, o seu poder tanante é mais baixo. Estes resultados podem dever-se ao maior teor em polissacáridos evidenciada por estes vinhos (figura 54). Este facto indica que será de esperar que estes vinhos sejam menos adstringentes. No entanto, esta hipótese carece de análise sensorial destes vinhos por um painel de provadores.

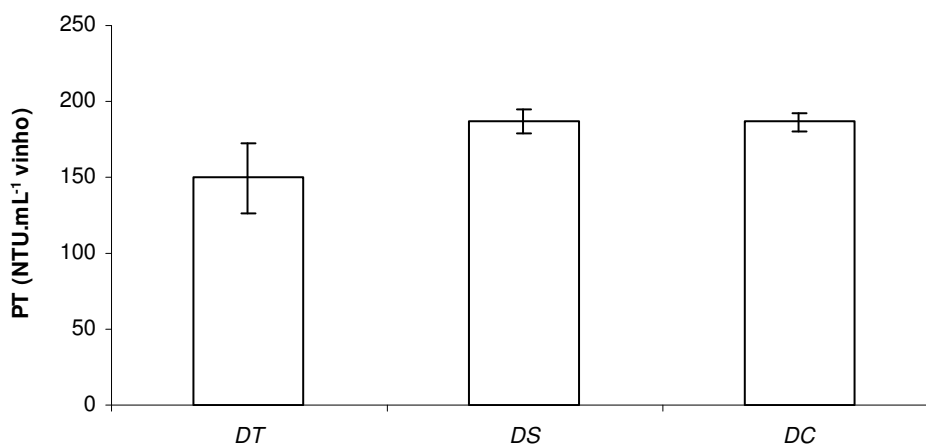


Figura 53. Poder tanante (PT; NTU.mL⁻¹ vinho) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Os resultados referentes ao teor em polissacáridos dos vinhos D encontram-se resumidos na tabela 18. Na figura 54 estão representados os valores médios obtidos para cada amostra.

Os vinhos selados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície possuem uma concentração mais elevada em polissacáridos (figura 54). As restantes amostras apresentam teores muito próximos, não havendo diferenças estatisticamente significativas. Estes resultados diferem dos encontrados para o ensaio anterior (vinhos A, B e C) em que foram os vinhos engarrafados com cortiça que apresentaram uma concentração mais elevada (figura 37). Tal como já foi referido anteriormente, a diminuição do teor em polissacáridos nos vinhos DS e DC pode dever-se à complexação dos mesmos com os compostos fenólicos e posterior precipitação.

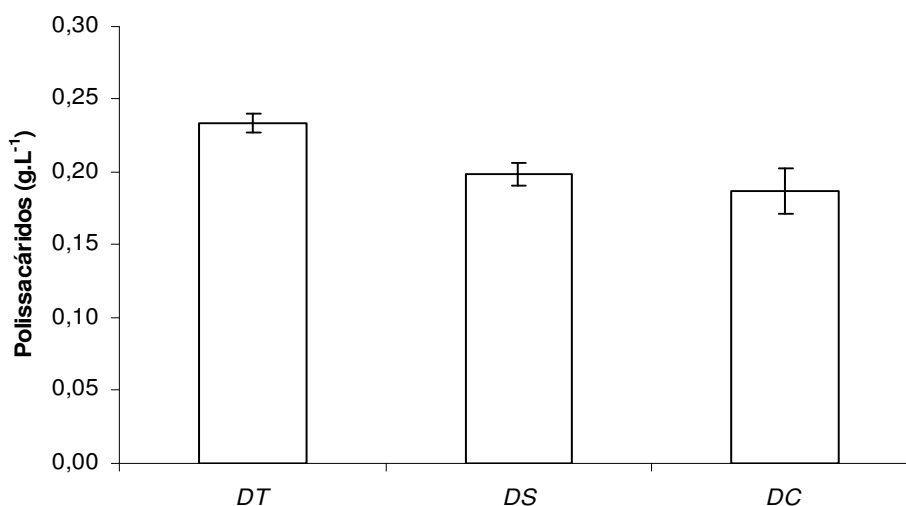


Figura 54. Teor em polissacáridos (g.L^{-1}) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.

2.6. Avaliação da capacidade antiradicalar e do poder redutor

A avaliação da capacidade de sequestrar radicais livres (capacidade antiradicalar) foi efectuada utilizando o radical estável DPPH. Para avaliar o poder redutor dos vinhos, utilizou-se o método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Os resultados obtidos estão resumidos na tabela 19 e nas figuras 554 e 56.

Tabela 19. Capacidade antiradicalar e poder redutor dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes: T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça. 1 e 2 são repetições do mesmo ensaio. Vinho de mesa tinto (colheita 1997) analisado ao fim de 8 anos de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes. Amostras com o mesmo símbolo (#) são estatisticamente diferentes entre si.

Amostras	Capacidade antiradicalar	Poder redutor
	(μM equivalentes trolox. mL^{-1} vinho)	(μM equivalentes trolox. mL^{-1} vinho)
D11	27 ± 1^a	37 ± 6^a
D12	$25,5 \pm 0,7^a$	40 ± 4^a
D21	27 ± 2^a	33 ± 2^a
D22	$27,0 \pm 0,7^a$	$28 \pm 2^{a, \#}$
D31	$31,1 \pm 0,1^b$	32 ± 3^a
D32	$31,8 \pm 0,4^b$	$42 \pm 5^{a, \#}$

A capacidade antioxidante dos flavonóides é determinada em grande parte pela sua estrutura, especialmente pela presença de anéis aromáticos, que permitem o suporte de um electrão desemparelhado como resultado da deslocalização do sistema electrónico. Outro aspecto determinante na estrutura dos flavonóides é a presença de grupos hidroxilo.

Diversos estudos concluíram que a fracção dos flavanóis (catequina e epicatequina) e as proantocianidinas exibem um elevado poder antiradicalar. No entanto, esta propriedade biológica depende do tamanho da molécula: monómeros e dímeros de flavanóis apresentam uma maior eficiência biológica, enquanto que os compostos mais polimerizados possuem um menor potencial antiradicalar.

Os vinhos engarrafados com rolha de cortiça apresentam uma maior capacidade antiradicalar, enquanto que os vinhos selados com vedantes sintéticos (amostras DT e DS) possuem uma menor capacidade, não existindo diferenças estatisticamente significativas entre si (figura 55).

Como se verificou anteriormente, os vinhos selados com rolha de cortiça apresentam um menor índice de diálise o que indica que são vinhos estruturalmente mais simples (figura 51). Para além disto possuem um maior teor em flavan-3-óis monoméricos (figura 49) o que poderá ter contribuído para o aumento da capacidade antiradicalar. No caso dos vinhos engarrafados com vedantes sintéticos, o maior grau de polimerização evidenciado (figura 51) poderá ter condicionado a capacidade antiradicalar por factores de acessibilidade.

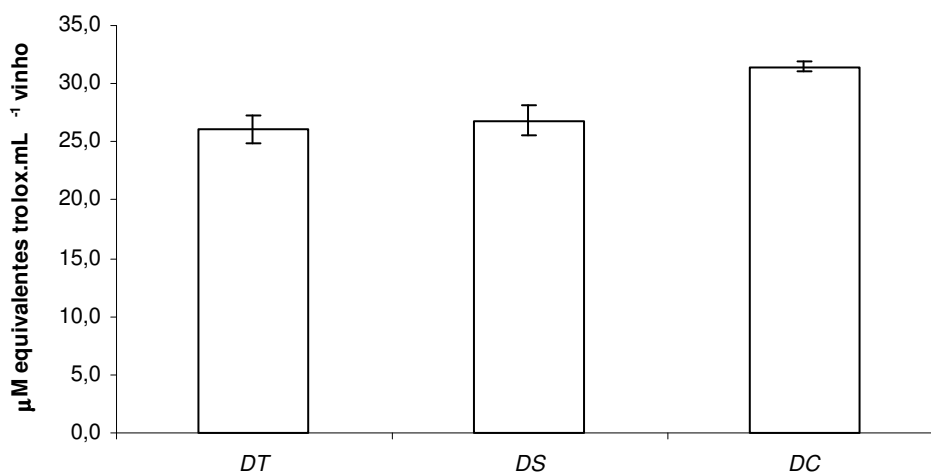


Figura 55. Capacidade antirradicalar (μM equivalentes trolox.mL⁻¹ vinho) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinada ao fim de 8 anos de engarrafamento.

Na avaliação do poder redutor, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os vinhos engarrafados com os diferentes tipos de vedantes. Tal como se verificou para a capacidade antirradicalar, seria de esperar que com o aumento da complexidade estrutural houvesse uma diminuição do poder redutor. Os polifenóis têm a capacidade de quelatar iões metálicos ao nível do grupo *orto*-catecol nas posições 3', 4'-dihidroxilo do anel B e nas posições 4-oxo, 3-OH ou 4-oxo, 5-OH do anel C (Rice-Evans *et al.*, 1996). Com o aumento da complexidade estrutural, cada vez é mais difícil o acesso a este grupo, o que se reflecte na perda gradual de capacidade de complexação de iões metálicos (Gaulejac *et al.*, 1999). Assim, seria de esperar que os vinhos engarrafados com rolha de cortiça, por possuírem estruturas menos complexas, apresentassem uma maior capacidade de quelatar iões metálicos.

No entanto, durante a maturação e o envelhecimento de um vinho, ocorrem mudanças drásticas no conteúdo polifenólico original, formando-se compostos poliméricos como resultado de reacções de condensação, polimerização e oxidação e que poderão possuir propriedades biológicas diferentes dos seus precursores. Algumas das estruturas existentes poderão ser quinonas, resultante de processos oxidativos.

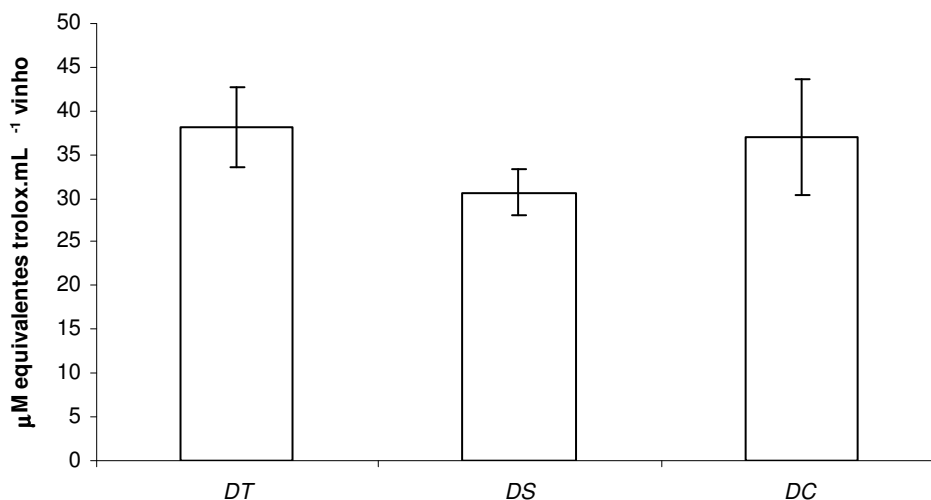


Figura 56. Poder redutor (μM equivalentes trolox.mL⁻¹ vinho) dos vinhos D engarrafados com diferentes tipos de vedantes (T, sintético com tratamento de superfície; S, sintético sem tratamento de superfície; C, cortiça) determinado ao fim de 8 anos de engarrafamento.

2.7. Conclusão

Neste segundo ensaio, verificou-se que os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos sem tratamento de superfície apresentaram um índice de cor vermelha e índice de cor superior, seguindo-se os vinhos engarrafados com rolha de cortiça. Este aumento foi acompanhado por uma diminuição do valor da luminosidade (L^*).

Apesar de não se verificarem diferenças estatisticamente significativas na absorvância a 420 nm entre amostras (DT, DS e DC), os vinhos engarrafados com vedante sintético com tratamento de superfície (DT) possuem uma contribuição superior deste comprimento de onda para a cor final do vinho. Este aumento foi acompanhado pelo incremento do valor de b^* e H° , o que indica um desvio da cor no sentido da tonalidade amarela.

Os vinhos engarrafados com rolha de cortiça natural possuem uma concentração superior em antocianinas livres, assim como em antocianinas 3-monoglucósidas, o que poderá significar que as antocianinas se encontram menos polimerizadas nestes vinhos.

Estes vinhos possuem igualmente uma concentração superior em catequinas e em procianidinas oligoméricas devendo ser vinhos estruturalmente mais simples. Estes resultados foram confirmados pelo índice de diálise uma vez que os vinhos engarrafados

com rolha de cortiça apresentam uma menor complexidade estrutural (menor índice de diálise). Já os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície aparentam ser estruturalmente mais complexos (menor teor em flavan-3-óis e maior índice de diálise).

Para os três tipos de vedantes estudados não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor em taninos condensados, no índice de fenóis totais e no poder tanante dos vinhos, excepto para os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície que possuem uma concentração inferior em fenóis totais e um menor poder tanante.

Os vinhos engarrafados com vedantes sintéticos com tratamento de superfície possuem ainda um teor superior em polissacáridos.

Na avaliação da capacidade antiradicalar, verifica-se que os vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem uma maior capacidade. Já para o poder redutor não há diferenças estatisticamente significativas entre os três tipos de vedantes.

3. Ensaio de rolha de cortiça versus vedante screw-cap em vinhos tintos de mesa (colheita 2005)

Neste ensaio de vedantes analisou-se um mesmo vinho selado com dois tipos de vedantes, rolha de cortiça natural e *screw-cap* (vinho E). O vinho foi fornecido por uma empresa francesa, tendo sido produzido na colheita de 2005 e engarrafado em Abril de 2006. A análise dos vinhos foi efectuada em dois períodos de tempo distintos: as amostras 1 correspondem a 7 meses engarrafamento enquanto que as amostras 2 correspondem a 14 meses engarrafamento.

3.1. Características cromáticas

Os resultados obtidos para o índice de cor vermelha (ICV), absorvância a 420 nm e para o índice de cor (IC) dos vinhos encontram-se resumidos na tabela 20 e nas figuras 57 a 59.

Tabela 20. Absorvância a 420, 520 (ICV) e 620 nm e índice de cor (IC) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarrafamento; 2, 14 meses de engarrafamento. Vinho tinto de mesa (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	Abs 420 nm	% 420 nm	Abs 520 nm	% 520 nm	Abs 620 nm	% 620 nm	IC
EC1	0,365 ± 0,001 ^a	36,0	0,543 ± 0,002 ^a	53,4	0,109 ± 0,001 ^a	10,7	1,017 ± 0,003 ^a
EW1	0,369 ± 0,001 ^b	35,9	0,551 ± 0,003 ^b	53,5	0,110 ± 0,001 ^a	10,7	1,030 ± 0,004 ^b
EC2	0,370 ± 0,002 ^b	37,4	0,511 ± 0,002 ^c	51,8	0,106 ± 0,003 ^{a,b}	10,8	0,987 ± 0,005 ^c
EW2	0,366 ± 0,003 ^a	37,6	0,501 ± 0,003 ^d	51,6	0,105 ± 0,002 ^b	10,8	0,972 ± 0,008 ^d

No caso das amostras 1 (7 meses de envelhecimento em garrafa), os vinhos engarrafados com *screw-cap* apresentam um maior índice de cor vermelha. Já para as amostras 2 (14 meses de envelhecimento em garrafa) os vinhos selados com rolha de cortiça possuem um índice de cor vermelha superior (figura 57). O comportamento evidenciado pelo segundo grupo de amostras já tinha sido verificado no primeiro ensaio (vinhos A, B e C).

Os vinhos que apresentam um ICV superior possuem simultaneamente um teor mais elevado em antocianinas 3-monoglucósidas (tabela 23). Entre os dois períodos de tempo (amostras 1 e 2), verifica-se uma diminuição da absorvância a 520 nm, provavelmente

resultado das reacções que ocorrem entre os diversos compostos fenólicos durante a maturação dos vinhos.

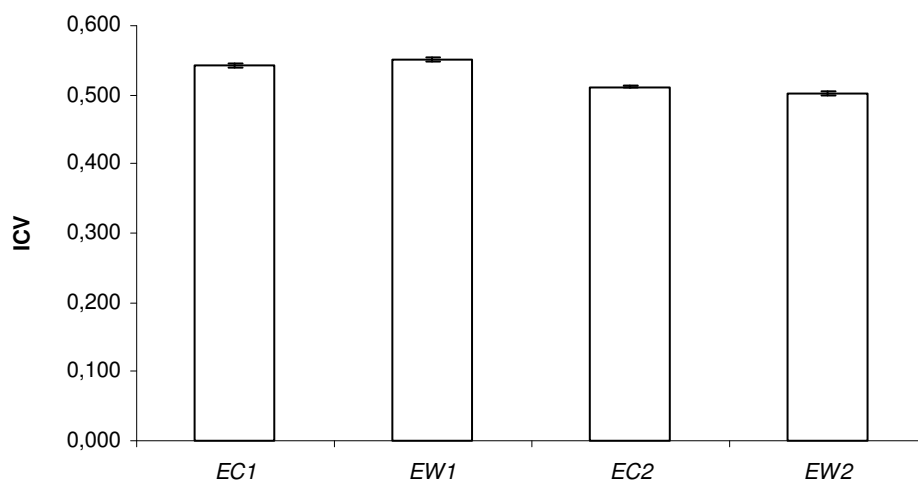


Figura 57. Índice de cor vermelha (abs 520 nm) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) obtido ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Quanto à absorvância a 420 nm, o comportamento evidenciado pelos dois grupos de amostras é semelhante ao descrito anteriormente para o ICV (figura 58). Verifica-se apenas um ligeiro aumento da contribuição deste comprimento de onda para a cor final dos vinhos para as amostras do grupo 2, o que poderá indicar um desvio para tonalidades mais amarelas como consequência da maturação/envelhecimento do vinho.

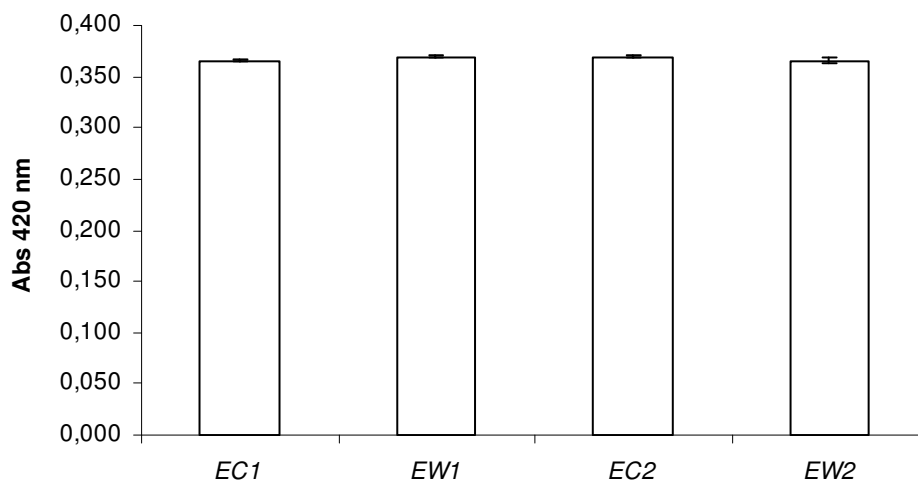


Figura 58. Abs 420 nm dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) obtida ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

No que diz respeito ao índice de cor (figura 59), o comportamento evidenciado é igual ao referido para o índice de cor vermelha.

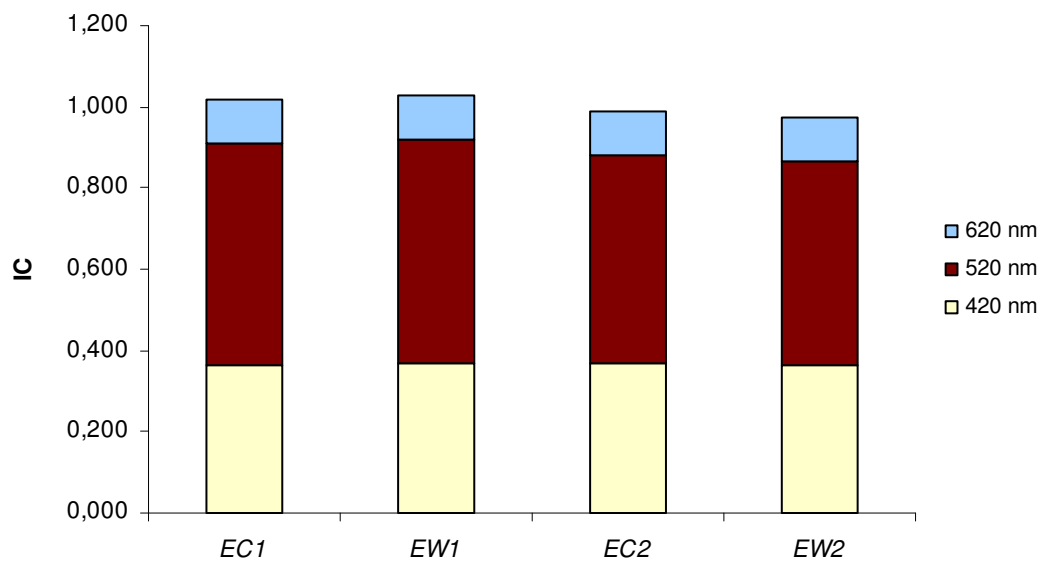


Figura 59. Índice de cor dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) obtida ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Os resultados obtidos na análise dos componentes colorimétricos dos vinhos estão reunidos na tabela 21 e nas figuras 60 e 61.

Tabela 21. Parâmetros colorimétricos dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarrafamento; 2, 14 meses de engarrafamento. Vinho de mesa (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	L*	a*	b*	C*	Hº
EC1	55,4 ± 0,4 ^a	45,10 ± 0,10 ^a	9,70 ± 0,40 ^a	46,10 ± 0,20 ^a	12,1 ± 0,5 ^a
EW1	54,9 ± 0,1 ^b	45,49 ± 0,08 ^b	9,57 ± 0,08 ^a	46,49 ± 0,07 ^b	11,9 ± 0,1 ^a
EC2	56,3 ± 0,1 ^c	43,16 ± 0,06 ^c	11,13 ± 0,09 ^b	44,57 ± 0,04 ^c	14,5 ± 0,1 ^b
EW2	57,1 ± 0,1 ^d	42,53 ± 0,03 ^d	11,42 ± 0,05 ^b	44,04 ± 0,02 ^d	15,0 ± 0,1 ^b

Nos parâmetros colorimétricos L*, a* e C* verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre vinhos engarrafados com os dois tipos de vedantes (rolha de cortiça e *screw-cap*).

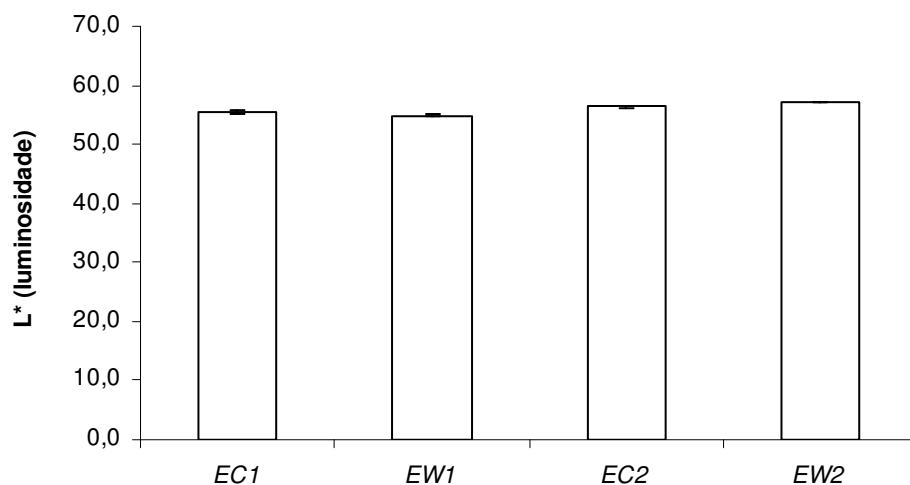


Figura 60. Parâmetro L* (luminosidade) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Os vinhos que apresentam um valor de L* superior (maior luminosidade / claridade) possuem igualmente um menor índice de cor (figura 60). De facto, os vinhos engarrafados com rolha de cortiça para o grupo 1 e os vinhos engarrafados com *screw-cap* para o grupo 2 apresentam um teor inferior em compostos fenólicos que contribuem para a cor (tabela

23), o que se traduz em vinhos com um menor índice de cor. Entre os dois intervalos de tempo, verifica-se um aumento da componente colorimétrica L^* , causando pela diminuição da intensidade corante dos vinhos.

Em relação ao parâmetro b^* , não se encontram diferenças estatisticamente significativas dentro de cada grupo de amostras (figura 61).

O ligeiro aumento da contribuição da absorvância a 420 nm para a cor final dos vinhos verificado para as amostras 2, é acompanhado por um aumento acentuado do parâmetro b^* , que poderá indicar uma deslocação para tonalidades mais amarelas/castanhas.

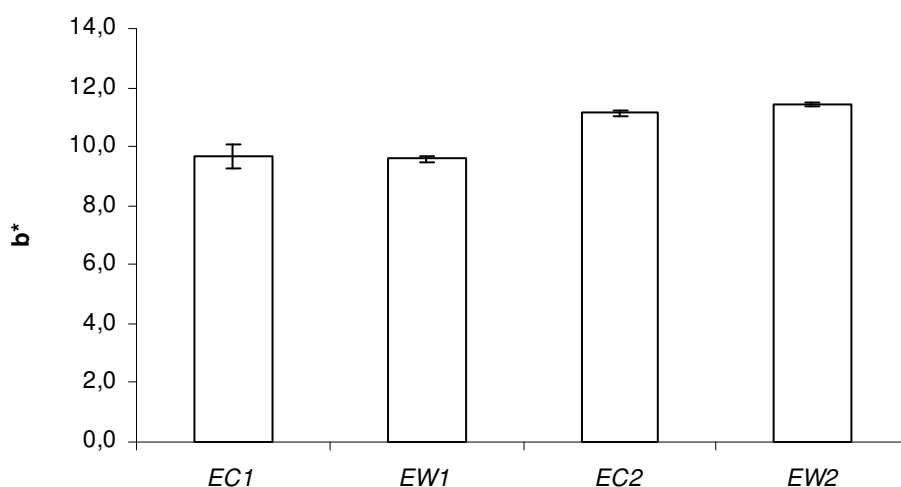


Figura 61. Parâmetro b^* dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

As amostras do primeiro grupo possuem um valor de C^* (cromaticidade) superior o que indica uma maior concentração de cor (tabela 21). A diminuição da cromaticidade para o segundo grupo poderá ter sido causada pela diminuição da intensidade corante destas amostras.

Dentro de cada grupo de amostras, os vinhos que apresentam maior ICV e IC (EW1 e EC2) são os que possuem um maior valor de C^* .

Já para a componente H^o , não se encontram diferenças estatisticamente significativas entre amostra do mesmo grupo (EC1/EW1 e EC2/EW2). Verifica-se apenas que os vinhos do

primeiro período (7 meses envelhecimento em garrafa) apresentam valores inferiores, o que revela um menor desvio para as tonalidades amarelas.

Em relação ao parâmetro a^* (tabela 21), as amostras do grupo 2 evidenciam um menor desvio para a tonalidade vermelha (a^* inferior) uma vez que estes vinhos possuem uma menor contribuição da absorvância a 520 nm, responsável pela cor vermelha dos vinhos.

3.2. Análise de antocianinas

Os resultados obtidos para o teor de antocianinas livres (ALT) e antocianinas polimerizadas (AP) estão resumidos na tabela 22. Na figura 62 apresentam-se os valores de antocianinas livres (ALT) obtidos para cada amostra.

Tabela 22. Composição em antocianinas livres (ALT) e em antocianinas polimerizadas (AP) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarrafamento; 2, 14 meses de engarrafamento. Vinho de mesa tinto francês (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes

Amostra	ALT (mg.L ⁻¹)	AP (%)
EC1	395,5 ± 0,8 ^a	17,6
EW1	391,0 ± 0,7 ^b	17,6
EC2	359 ± 2 ^c	12,7
EW2	354 ± 2 ^d	12,3

Para os dois períodos de tempo analisados, os vinhos engarrafados com rolha de cortiça (EC1 e EC2) possuem um teor superior em antocianinas livres o que poderá significar que as antocianinas se encontram complexadas em menor percentagem nestes vinhos (figura 62). No caso do grupo 1, o vinho engarrafado com *screw-cap*, apesar de possuir um maior teor em antocianinas monoglucósidas e uma maior intensidade de cor, apresenta também uma concentração superior em antocianinas polimerizadas.

Entre os dois períodos de tempo verifica-se uma diminuição do teor em antocianinas livres, indiciando um aumento da polimerização destes compostos, fruto das reacções que ocorrem durante a evolução do vinho. O aumento da complexidade estrutural das

antocianinas é acompanhado por uma diminuição da concentração em antocianinas monoglucósidas (tabela 23).

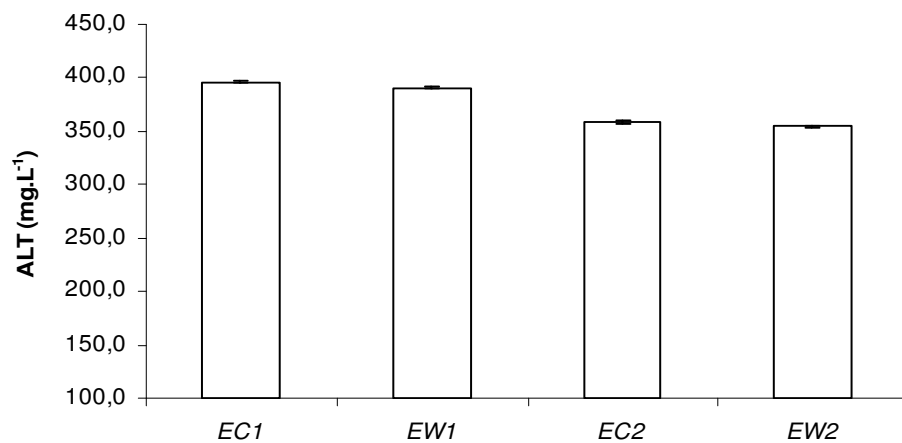


Figura 62. Antocianinas livres (ALT; mg.L⁻¹) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinadas ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

As concentrações em antocianinas 3-monoglucósidas estão reunidas na tabela 23 e nas figuras 63 e 64.

Tabela 23. Composição em antocianinas 3-monoglucósidas (AMT) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarrafamento; 2, 14 meses de engarrafamento. Vinho de mesa tinto francês (colheita 2005). Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

AMT	EC1	EW1	EC2	EW2
Del-3-gluc (mg.L ⁻¹)	31,5	32,4	22,1	19,8
Cia-3-gluc (mg.L ⁻¹)	2,9	2,6	1,8	1,7
Pet-3-gluc (mg.L ⁻¹)	26,8	27,3	17,8	16,0
Peo-3-gluc (mg.L ⁻¹)	17,4	17,4	10,3	9,4
Mal-3-gluc (mg.L ⁻¹)	105,3	106,5	68,0	63,0
Total ésteres 3-glucósidos (mg.L⁻¹)	184 ± 3	186 ± 2	120,3 ± 0,8	109,8 ± 0,4
Del-act (mg.L ⁻¹)	6,0	5,9	3,9	3,1
Cia-act (mg.L ⁻¹)	2,7	2,8	nd	nd
Pet-act (mg.L ⁻¹)	5,8	6,0	3,6	3,2
Peo-act (mg.L ⁻¹)	0,8	0,8	0,7	0,6
Mal-act (mg.L ⁻¹)	22,4	23,3	13,8	12,4
Total ésteres acéticos (mg.L⁻¹)	37,7 ± 0,6	38,7 ± 0,8	21,9 ± 0,4	19,40 ± 0,01
Del-cum (mg.L ⁻¹)	5,2	5,5	5,0	4,1
Cia-cum (mg.L ⁻¹)	1,0	1,0	0,6	0,5
Pet-cum (mg.L ⁻¹)	0,1	0,1	0,2	0,1
Peo-cum (mg.L ⁻¹)	3,6	3,8	2,3	2,0
Mal-cum (mg.L ⁻¹)	10,2	10,8	6,6	5,7
Total ésteres cumáricos (mg.L⁻¹)	20,1 ± 0,7	21 ± 1	14,6 ± 0,1	12,4 ± 0,3
Peo-caf (mg.L ⁻¹)	2,0	1,9	1,3	1,1
Mal-caf (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
Total ésteres cafeicos (mg.L⁻¹)	2,0 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,15 ± 0,04
Total (mg.L⁻¹)	244 ± 4^a	248 ± 4^a	158 ± 1^b	142,7 ± 0,2^c

nd: não detectado;

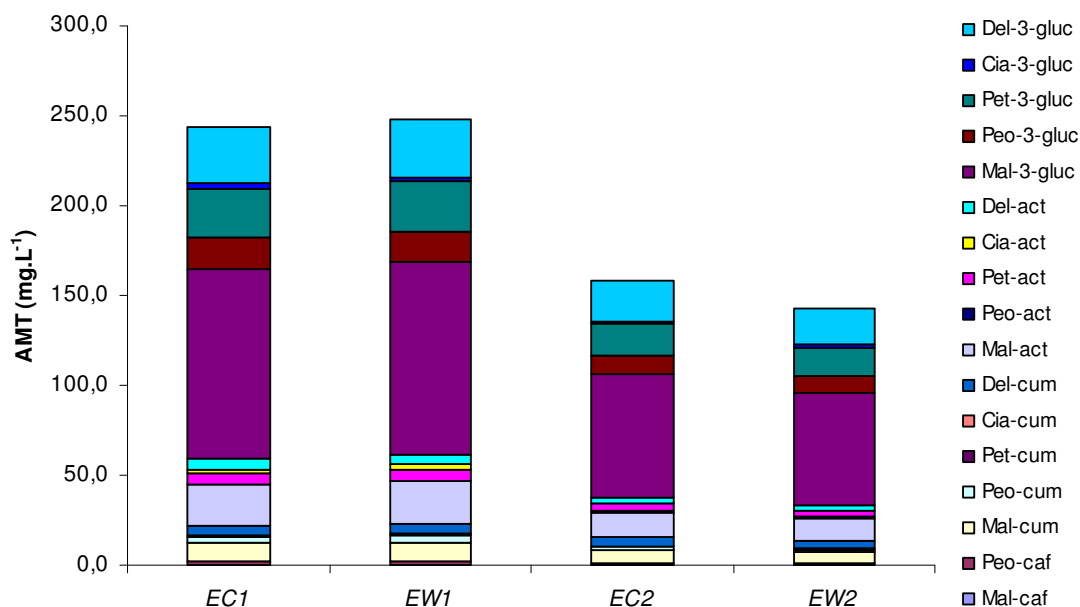


Figura 63. Antocianinas monoglucósidas (AMT; mg.L⁻¹) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinadas ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

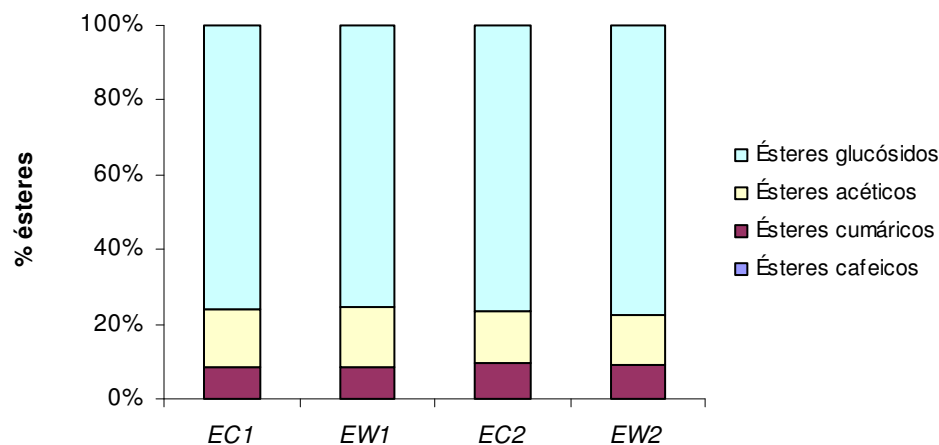


Figura 64. Percentagem de ésteres glucósidos, acéticos, cumáricos e cafeicos dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinada ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Os vinhos utilizados neste ensaio são da colheita 2005, tratando-se por isso de vinhos pouco evoluídos. Assim, a transformação das antocianinas monoméricas em pigmentos mais polimerizados ainda não decorreu em grande extensão, sendo possível detectar a

maior parte das antocianinas monoméricas. O perfil cromatográfico obtido é semelhante ao apresentado na figura 21 (*Material e Métodos*).

Para o grupo 2, a ordem relativa da concentração em antocianinas monoglucósidas é a mesma observada para as antocianinas livres sendo o vinho engarrafado com rolha de cortiça o que apresenta uma maior concentração em antocianinas 3-monoglucósidas. Já para o primeiro grupo, não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor em antocianinas monoglucósidas totais.

Os valores de concentrações totais em antocianinas 3-monoglucósidas são devidos fundamentalmente à concentração de ésteres 3-glucósidos, como se pode verificar pela figura 64. Para todas as amostras analisadas os ésteres 3-glucósidos representam a quase totalidade das antocianinas presentes, seguindo-se os ésteres acéticos e os ésteres cumáricos. A percentagem de ésteres cafeicos é muito pequena.

Quanto às concentrações individuais de cada antocianina, verifica-se que o 3-glucósido de malvidina (mal-3-gluc) e os seus ésteres acético (mal-act) e cumárico (mal-cum) foram os principais compostos detectados nos vinhos, possuindo valores de concentração muito superiores. O 3-glucósido de delphinidina (del-3-gluc), petunidina (pet-3-gluc) e peonidina (peo-3-gluc) também contribuíram para a concentração em ésteres 3-glucósidos.

Para os ésteres acéticos, o 3-acetilglucósido de cianidina (cia-act) só é detectado para as amostras do primeiro grupo. O 3-acetilglucósido de delphinidina (del-act) e de petunidina (pet-act) também contribuem para a concentração de ésteres acéticos.

O 3-cafeoilglucósido de malvidina (mal-caf) não foi detectado em nenhum dos vinhos.

Entre os dois períodos de tempo analisados ocorreu uma diminuição do teor em antocianinas que foi acompanhada por uma redução do índice de cor vermelha (figura 57) a das antocianinas livres (figura 62).

De um modo geral, verifica-se que os vinhos que possuem uma concentração total em antocianinas 3-monoglucósidas superior, apresentam também um índice de cor vermelha maior.

3.3. Análise dos flavan-3-óis

A composição dos vinhos em flavan-3-óis (catequinas e procianidinas oligoméricas) é apresentada na tabela 24 e na figura 65.

Tabela 24. Composição em catequinas e em procianidinas oligoméricas dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarrafamento; 2, 14 meses de engarrafamento. Vinho de mesa (colheita 2005). Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

FLAVAN-3-ÓIS	EC1	EW1	EC2	EW2
B1 (mg.L ⁻¹)	320,7	328,9	340,8	344,8
B2 (mg.L ⁻¹)	80,5	82,0	85,2	92,4
B3 (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
B4 (mg.L ⁻¹)	9,4	9,9	18,7	12,4
B5 (mg.L ⁻¹)	9,6	14,3	13,1	13,6
B6 (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
B7 (mg.L ⁻¹)	8,2	7,8	4,9	3,1
B8 (mg.L ⁻¹)	0,1	nd	2,4	2,1
B2-galhato (mg.L ⁻¹)	18,2	17,1	12,2	11,2
C1 (mg.L ⁻¹)	2,5	2,6	14,8	12,7
Total (oligómeros) (mg.L⁻¹)	449,2	462,6	492,0	492,0
(+)-catequina (mg.L ⁻¹)	30,2	28,2	24,9	23,3
(-)-epicatequina (mg.L ⁻¹)	49,1	44,2	22,6	22,0
(-)-epicatequina-galhato (mg.L ⁻¹)	1,5	1,9	1,2	1,8
Total (catequinas) (mg.L⁻¹)	80,8	74,3	48,7	47,1
Total (oligómeros e catequinas) (mg.L⁻¹)	530 ± 35^a	537 ± 27^a	541 ± 5^a	539 ± 17^a

nd: não detectado;

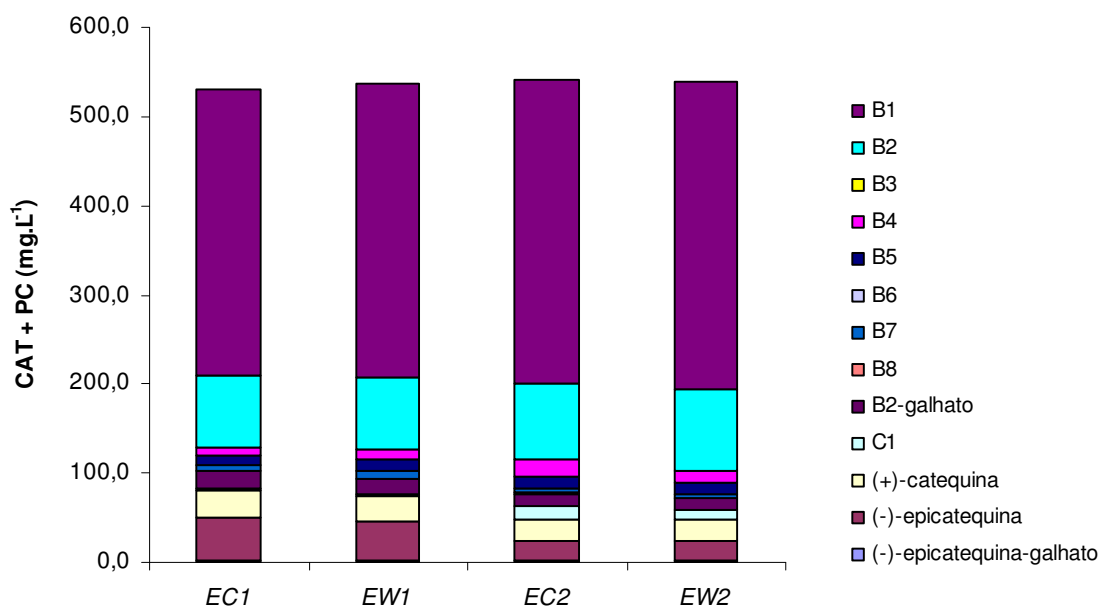


Figura 65. Catequinas e procianidinas oligoméricas (PC) vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinadas ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Para os dois grupos de vinhos analisados, não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor em flavan-3-óis.

O dímero B1 foi a procianidina que mais contribuiu para a concentração em flavan-3-óis, seguindo-se os dímeros B2, B2-galhato, B5 e B6. Os dímeros B3 e B6 não estão presentes nos vinhos analisado, enquanto que a procianidina B8 foi detectada em quantidades muito baixas.

Para as amostras 2, o trímero C1 tem uma contribuição importante para a concentração dos oligómeros, sendo no entanto detectado em quantidades muito baixas nas amostras 1.

No que diz respeito aos flavan-3-óis monoméricos, para as amostras do grupo 1, a (-)-epicatequina é o monómero que surge em maior quantidade, seguido pela (+)-catequina e pela (-)-epicatequina-galhato, que se encontra em concentrações bastante inferiores. Para as amostras do grupo 2, a (+)-catequina foi detectada em concentrações superiores.

Para todas as amostras analisadas, o teor em procianidinas oligoméricas é superior à concentração em unidades monoméricas.

Verifica-se ainda que entre os dois períodos de tempo há uma diminuição acentuada da concentração em flavan-3-óis monoméricos, aumentando no entanto a concentração em procianidinas diméricas, nomeadamente nos dímeros B1 e B4 e no trímero C1. Este aumento pode ter sido causado pela condensação das estruturas monoméricas, levando ao aumento do teor em flavan-3-óis.

3.4. Análise de taninos condensados, índice de diálise e índice de fenóis totais

Os resultados obtidos no doseamento de taninos proantociânicos totais (TPA) são apresentados na tabela 25 e na figura 66.

Tabela 25. Composição em taninos proantociânicos totais (TPA), índice de diálise (I.D) e índice de fenóis totais (IFT) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarrafamento; 2, 14 meses de engarrafamento. Vinho de mesa (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes

Amostras	TPA (g.L ⁻¹)	I.D	IFT
EC1	3,01 ± 0,07 ^a	0,19 ± 0,02 ^a	52,8 ± 0,1 ^a
EW1	2,59 ± 0,05 ^b	0,265 ± 0,004 ^b	53,3 ± 0,2 ^b
EC2	3,42 ± 0,03 ^c	0,262 ± 0,009 ^b	52,4 ± 0,4 ^{a,c}
EW2	3,47 ± 0,03 ^c	0,272 ± 0,005 ^b	52,1 ± 0,1 ^c

No caso das amostras 1, os vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem uma concentração mais elevada em taninos proantociânicos totais. No segundo grupo de amostras, não se verificam diferenças estatisticamente significativas no teor em TPA entre os dois vinhos (figura 66).

Verifica-se igualmente um ligeiro aumento da concentração em taninos condensados entre os dois períodos de tempo analisados.

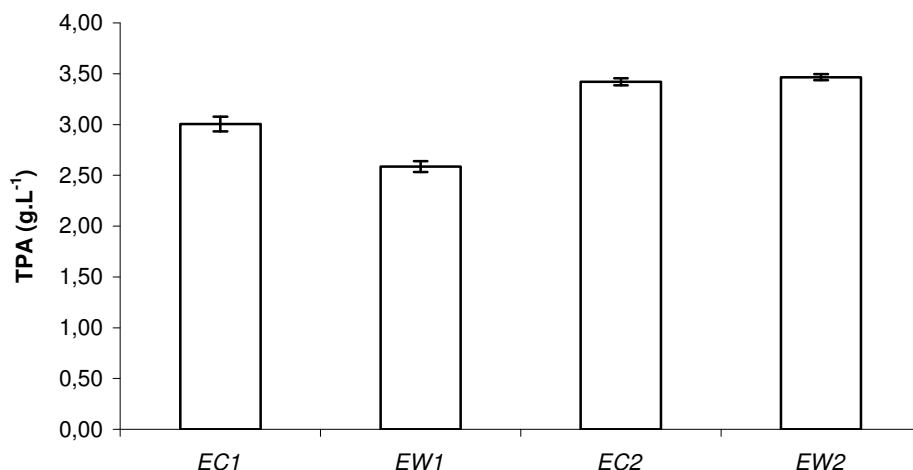


Figura 66. Taninos condensados (TPA; g.L⁻¹) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinados ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Os resultados referentes ao índice de diálise (I.D) encontram-se na tabela 25 e na figura 67.

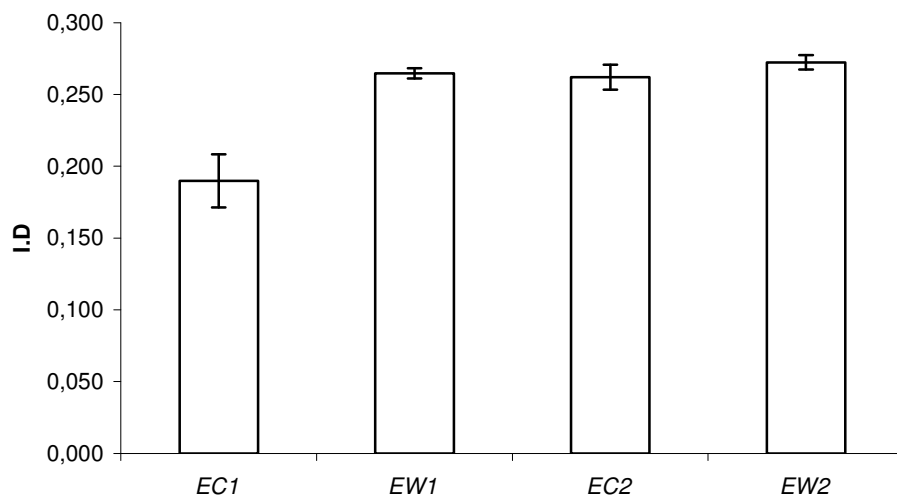


Figura 67. Índice de diálise (I.D) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

No que diz respeito ao índice de diálise, o vinho engarrafado com cortiça (amostra EC1) é o que apresenta um valor menor. Este vinho deverá ser estruturalmente mais simples, possuindo polifenóis menos complexos. Apesar de possuir uma concentração superior em taninos condensados, estes devem estar numa forma menos polimerizada (figura 66).

Verifica-se o oposto para o vinho selado com *screw-cap*. Apesar do teor em taninos condensado ser mais baixo, o seu índice de diálise é superior o que poderá indicar uma maior polimerização destes compostos.

Para as amostras do grupo 2, não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os vinhos engarrafados com os dois tipos de vedantes.

Como foi referido anteriormente, a difusão do oxigénio atmosférico para o interior das garrafas deverá ser um factor determinante para a ocorrência das reacções de polimerização e de condensação entre os compostos fenólicos. Assim, e como em diversos estudos efectuados os vedantes *screw-cap* revelaram uma maior estanquicidade ao oxigénio que os restantes vedantes seria de esperar que os vinhos selados com *screw-cap* apresentassem um índice de diálise inferior.

O doseamento dos fenóis totais foi efectuado através da leitura da absorvância a 280 nm. Os resultados obtidos para o índice de fenóis totais encontram-se resumidos na tabela 25 e na figura 68.

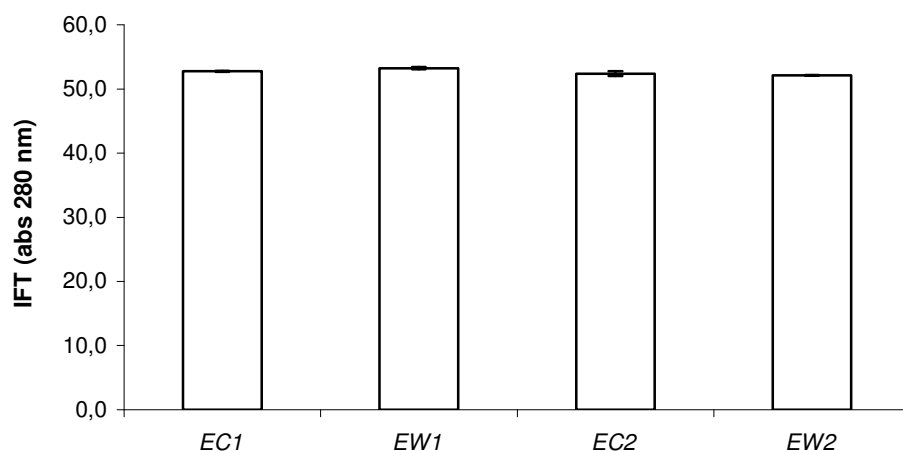


Figura 68. Índice de fenóis totais (IFT; abs 280 nm) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Para as amostras do grupo 1, o vinho engarrafado com rolha de cortiça natural possui um teor superior em compostos fenólicos. No segundo grupo não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre amostras.

Entre os dois períodos de tempo verifica-se uma ligeira diminuição do conteúdo em compostos fenólicos (figura 68).

3.5. Análise do poder tanante e teor em polissacáridos

Os resultados obtidos para o poder tanante (PT) encontram-se na tabela 26 e na figura 69.

Tabela 26. Poder tanante (PT) e teor em polissacáridos dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarrafamento; 2, 14 meses de engarrafamento. Vinho de mesa (colheita 2005). Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	PT (NTU.mL ⁻¹)	Polissacáridos (g.L ⁻¹)
EC1	273 ± 5 ^a	0,085 ± 0,005 ^a
EW1	279 ± 6 ^a	0,076 ± 0,005 ^b
EC2	228 ± 5 ^b	0,088 ± 0,005 ^a
EW2	226 ± 4 ^b	0,069 ± 0,003 ^b

Na determinação do poder tanante, não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os vinhos engarrafados com rolha de cortiça e com *screw-cap*.

O vinho engarrafado com rolha de cortiça (EC1), possuiu uma concentração superior em taninos condensados, sendo por isso de esperar que este vinho apresentasse um maior poder tanante. Por outro lado, possui igualmente um teor mais elevado em polissacáridos (figura 70) e um menor índice de diálise que poderão justificar o poder tanante inferior. O mesmo se verifica para o vinho selado com *screw-cap* (EW1). Apesar do menor teor em taninos condensados, o seu índice de diálise superior ou o menor teor em polissacáridos poderão ter contribuído para o aumento do poder tanante.

Entre os dois períodos de tempo (grupo 1 e 2), verifica-se uma diminuição do poder tanante dos vinhos, que aparentemente se tornam menos adstringentes. Esta diminuição do poder tanante poderá ser consequência do aumento da complexidade estrutural dos compostos fenólicos, que à medida que se vão tornando mais polimerizados, deixam de poder reagir com as proteínas salivares por impedimentos estereoquímicos.

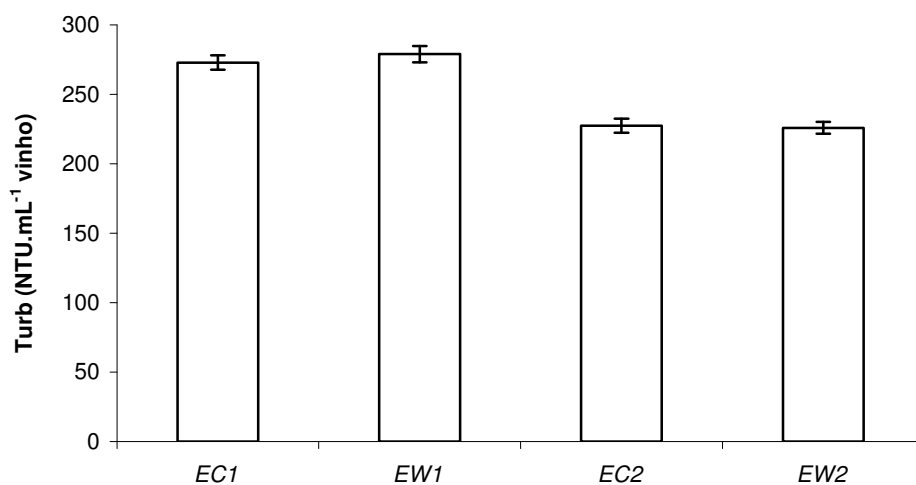


Figura 69. Poder tanante (PT; NTU.mL⁻¹ vinho) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Os resultados referentes ao teor em polissacáridos dos vinhos E encontram-se resumidos na tabela 26 e na figura 70.

No que diz respeito à concentração em polissacáridos, os vinhos selados com rolha de cortiça natural são os que possuem um valor mais elevado (figura 70). Estes valores vêm ao encontro dos resultados obtidos no ensaio dos vinhos A, B e C.

Entre os dois períodos de armazenamento em garrafa (grupo 1 e 2), não se verificam diferenças estatisticamente significativas no conteúdo em açúcares.

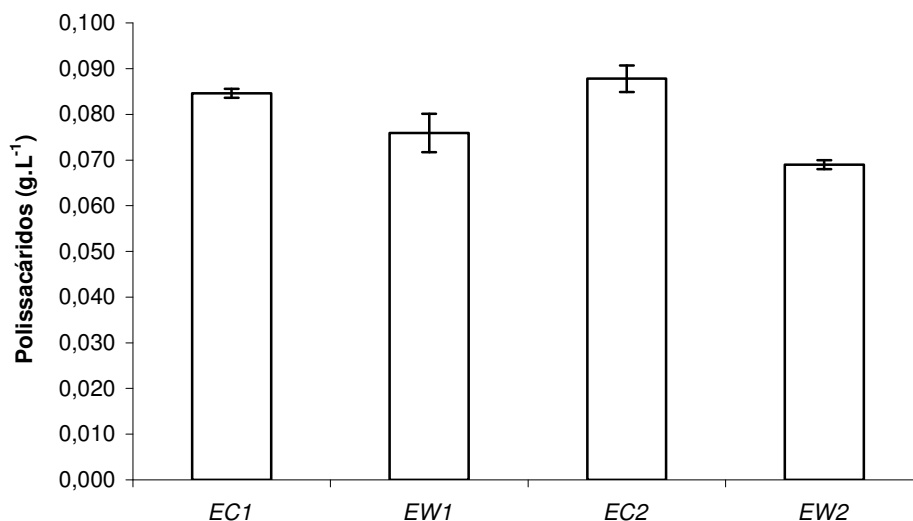


Figura 70. Teor em polissacáridos (g.L⁻¹) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

3.6. Avaliação da capacidade antiradicalar e do poder redutor

Os resultados obtidos na avaliação da capacidade antiradicalar e do poder redutor dos vinhos E estão resumidos na tabela 27 e nas figuras 71 e 72.

Tabela 27. Capacidade antiradicalar e poder redutor dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes: C, cortiça; W, *screw-cap*. 1 e 2 correspondem aos dois períodos de análise: 1, 7 meses de engarrafamento; 2, 14 meses de engarrafamento. Vinho de mesa (colheita 2005).

Amostras	Capacidade antiradicalar	Poder redutor
	(μM equivalentes trolox.mL ⁻¹ vinho)	(μM equivalentes trolox.mL vinho ⁻¹)
EC1	28 ± 1 ^a	148 ± 3 ^a
EW1	29,6 ± 0,9 ^a	125 ± 6 ^b
EC2	42 ± 1 ^b	217 ± 4 ^c
EW2	41 ± 1 ^b	227 ± 4 ^c

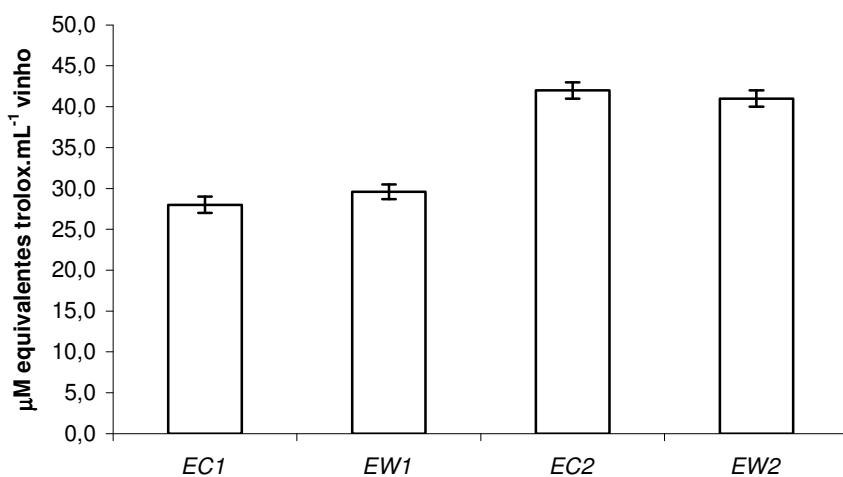


Figura 71. Capacidade antiradicalar (μM equivalentes trolox.mL⁻¹ vinho) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinada ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

Como já foi referido anteriormente, a capacidade de sequestrar radicais livres está relacionada com o conteúdo em flavan-3-óis de um vinho e mais propriamente com a complexidade estrutural destes compostos. Os polímeros de flavan-3-óis não têm grande influência na actividade antioxidante, mas os compostos de baixo peso molecular como os monómeros e os dímeros podem ter uma participação importante (Arnous *et al.*, 2001).

Para as amostras de um mesmo grupo, não se verificam diferenças estatisticamente significativas na capacidade antiradicalar dos vinhos engarrafados com diferente tipo de vedantes.

No entanto, para os dois períodos de tempo analisados verifica-se um aumento significativo. Estes resultados estão de acordo com a tendência seguida pelos flavan-3-óis (figura 65). O segundo grupo de amostras possui uma concentração superior em flavan-3-óis, nomeadamente em dímeros que poderá ter contribuído para o aumento da capacidade antiradicalar destes vinhos.

Na avaliação do poder redutor, verifica-se que o vinho engarrafado com rolha de cortiça (grupo 1) apresenta um maior poder redutor, enquanto que para o grupo 2 não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os dois tipos de vedantes.

Tal como se verificou para a capacidade antiradicalar, há um aumento acentuado do poder redutor entre os dois intervalos de tempo.

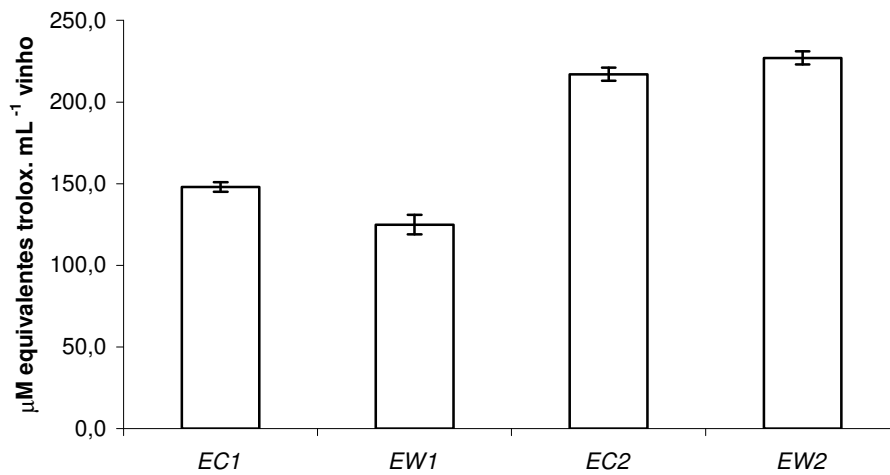


Figura 72. Poder redutor (μM equivalentes trolox. mL^{-1} vinho) dos vinhos E engarrafados com diferentes tipos de vedantes (C, cortiça; W, *screw-cap*) determinado ao fim de 7 meses de engarrafamento (1) e 14 meses de engarrafamento (2).

3.7. Conclusão

Neste ensaio da interacção vinho-vedante, constatou-se que para um período de 7 meses de engarrafamento, o vinho engarrafado com *screw-cap* possui um índice de cor vermelha e uma intensidade corante superior. Ao fim de 14 meses de engarrafamento verificou-se que o vinho selado com rolha de cortiça possuiu um maior valor.

Verifica-se ainda que vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem um maior teor em antocianinas livres, devendo por isso ser constituídos por antocianinas menos complexas. Entre os dois períodos de tempo (grupo 1 e 2) ocorre uma diminuição do teor em antocianinas livres, indiciando um aumento da complexidade estrutural destes compostos com a maturação do vinho. O aumento da complexidade estrutural das antocianinas foi acompanhado por uma diminuição da concentração em antocianinas monoglucósidas. No caso do primeiro grupo não há diferenças estatisticamente

significativas no teor em antocianinas 3-monoglucósidas, enquanto que para o segundo grupo, o vinho engarrafado com rolha de cortiça possui uma concentração superior.

No que diz respeito ao teor em taninos condensados, no segundo grupo não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre amostras (EC e EW), enquanto que para o primeiro os vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem uma concentração superior. Já para o índice de diálise, este vinho é o apresenta um valor mais baixo, não havendo diferenças entre os restantes vinhos.

Na avaliação do poder tanante não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os vinhos do mesmo grupo. Ocorre apenas uma diminuição do poder tanante entre os dois períodos de tempo. No doseamento dos polissacáridos, vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem uma concentração superior.

Na avaliação da capacidade antiradicalar não se verificam diferenças estatisticamente significativas nos vinhos engarrafados com os dois tipos de vedantes. Ocorre apenas um aumento da capacidade de sequestrara radicais livres no segundo grupo, provavelmente devido ao aumento do teor em dímeros de flavan-3-óis.

Na determinação do poder redutor, para o primeiro grupo os vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem um maior poder redutor, enquanto que para o segundo grupo não há diferenças estatisticamente significativas entre amostras.

4. Ensaio de rolhas de cortiça vs vedante sintético em vinhos tintos de mesa (colheita 2005)

Neste ensaio de vedantes, analisou-se um mesmo vinho (vinho F) selado com três tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético Nomacorc®). O vinho testemunho, codificado com o algarismo 0 não foi engarrafado, tendo permanecido armazenado em barrica até à sua análise.

O vinho foi produzido na colheita de 2005, engarrafado em 2006 e analisado 9 meses após o seu engarrafamento.

4.1. Características cromáticas

Os resultados obtidos para o índice de cor vermelha (ICV) e para o índice de cor (IC) dos vinhos F encontram-se resumidos na tabela 28 e nas figuras 73 a 75.

Tabela 28. Absorvância a 420, 520 (ICV) e 620 nm e índice de cor (IC) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	Abs 420 nm	% 420 nm	Abs 520 nm	% 520 nm	Abs 620 nm	% 620 nm	IC
F1	0,354 ± 0,002 ^a	39,4	0,435 ± 0,002 ^a	48,3	0,111 ± 0,001 ^a	12,3	0,899 ± 0,004 ^a
F2	0,368 ± 0,001 ^b	39,5	0,448 ± 0,001 ^b	48,1	0,115 ± 0,002 ^b	12,4	0,931 ± 0,002 ^b
F3	0,357 ± 0,002 ^a	39,5	0,437 ± 0,002 ^a	48,3	0,111 ± 0,001 ^a	12,3	0,905 ± 0,005 ^a
F0	0,357 ± 0,001 ^a	40,5	0,418 ± 0,004 ^c	47,5	0,106 ± 0,001 ^c	12,0	0,881 ± 0,005 ^c

O vinho engarrafado com a rolha de cortiça colmatada (vedante F2) apresenta uma maior absorvância a 520 nm (maior ICV), enquanto que o vinho testemunho (amostra F0) possui um menor ICV. Entre os restantes vinhos não se verificam diferenças estatisticamente significativas (figura 73).

Apesar do vinho engarrafado com a rolha de cortiça colmatada apresentar um maior índice de cor vermelha, apresenta simultaneamente um teor mais baixo em antocianinas 3-monoglucósidas (tabela 31). As rolhas colmatadas são rolhas de cortiça natural com os

poros preenchidos com pó de cortiça. Assim, esta rolha poderá possuir uma maior permeabilidade ao oxigênio, verificando-se por isso uma diminuição do teor em SO_2 , o que se traduziria numa menor perda de cor com o tempo.

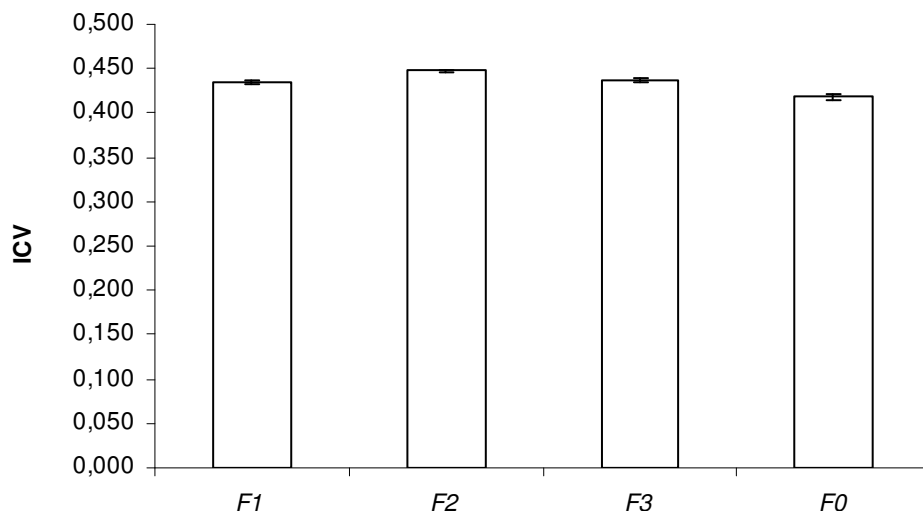


Figura 73. Índice de cor vermelha (abs 520 nm) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

O vinho engarrafado com rolha de cortiça colmatada apresenta igualmente uma maior absorvância a 420 nm, não se verificando diferenças estatisticamente significativas entre os restantes vinhos (figura 74).

No entanto, para o vinho testemunho (F0) a contribuição da absorvância a 420 nm para a intensidade corante é superior, o que poderá indicar um maior desvio para a cor amarela. Estes resultados podem ser confirmados pelos parâmetros colorimétricos b^* e H° que são superiores neste vinho (tabela 29).

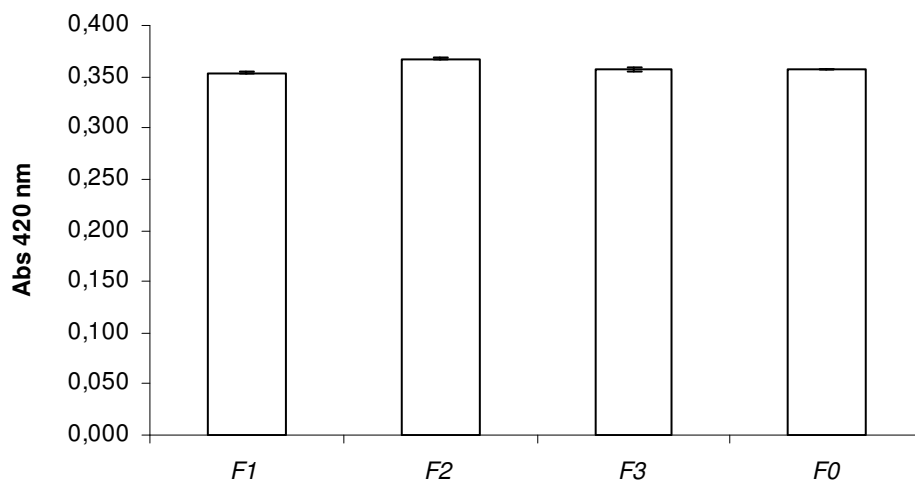


Figura 74. Abs 420 nm dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

Quanto ao índice de cor (figura 75), o comportamento evidenciado é semelhante ao referido para o índice de cor vermelha.

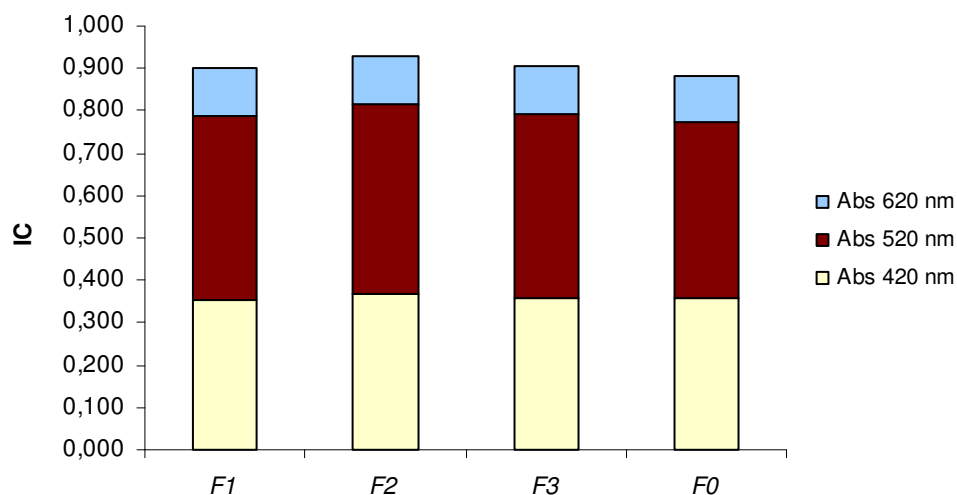


Figura 75. Índice de cor dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

Os resultados obtidos na determinação dos parâmetros colorimétricos estão reunidos na tabela 29 e figuras 76 e 77.

Tabela 29. Parâmetros colorimétricos dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Vinhos	L*	a*	b*	C*	H ^e
F1	57,55 ± 0,03 ^a	37,76 ± 0,02 ^a	12,96 ± 0,01 ^a	39,92 ± 0,02 ^a	18,94 ± 0,01 ^a
F2	56,86 ± 0,04 ^b	38,38 ± 0,04 ^b	13,5 ± 0,1 ^b	40,68 ± 0,05 ^b	19,35 ± 0,06 ^a
F3	57,56 ± 0,01 ^a	37,77 ± 0,04 ^a	13,26 ± 0,04 ^c	40,03 ± 0,03 ^c	19,35 ± 0,08 ^a
F0	58,9 ± 0,1 ^c	36,64 ± 0,03 ^c	14,12 ± 0,04 ^d	39,26 ± 0,02 ^d	20,74 ± 0,6 ^b

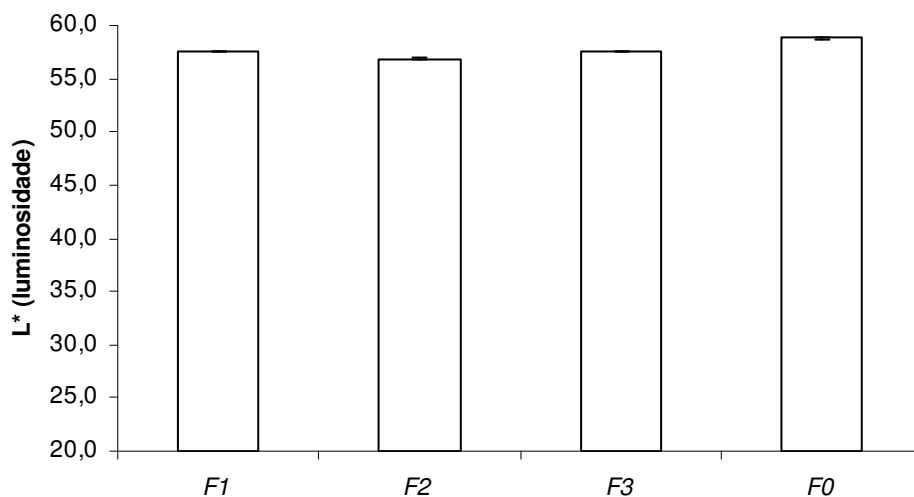


Figura 76. Parâmetro L* (luminosidade) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

O vinho engarrafado com rolha de cortiça colmatada (amostra F2) possui um valor de L* inferior, o que significa que estes vinhos são mais opacos, apresentando um índice de cor superior (figura 76). O vinho testemunho, apesar de possuir uma concentração superior em antocianinas 3-monoglucósidas (tabela 31) possui um menor índice de cor, apresentando

um maior valor de luminosidade (L^*). Entre os vinhos engarrafados com rolha técnica 1+1 (F1) e vedante sintético (F3) não se verificam diferenças estatisticamente significativas.

O vinho testemunho apresenta um valor de b^* superior, seguindo-se o vinho engarrafado com rolha de cortiça colmatada (F2) e com vedante sintético (F3) (figura 77). Este aumento da coordenada cromática b^* poderá indicar um desvio para a tonalidade amarela. Estes resultados estão de acordo com os valores de absorvância a 420 nm obtidos (tabela 28).

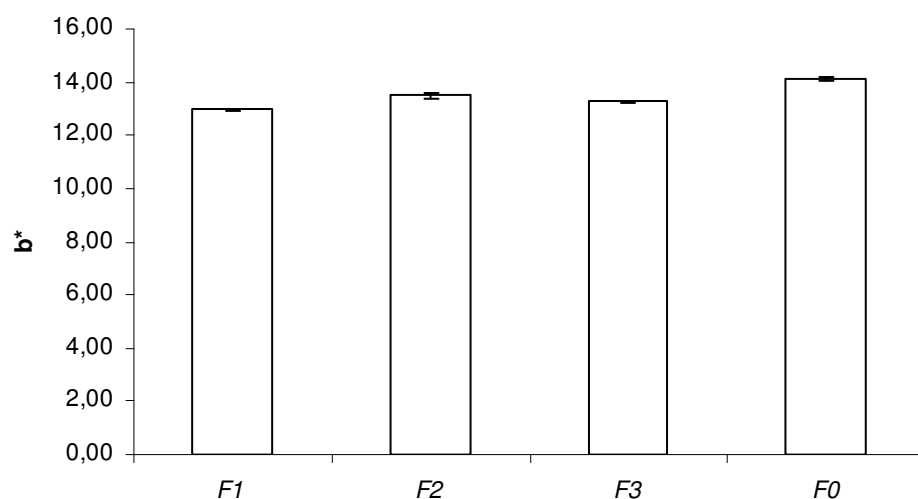


Figura 77. Parâmetro b^* dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

4.2 Análise de antocianinas

Os resultados obtidos para o teor em antocianinas livres (ALT) e antocianinas polimerizadas (AP) estão reunidos na tabela 30 e figura 78.

Tabela 30. Composição em antocianinas livres totais (ALT) e antocianinas polimerizadas (AP) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostra	ALT (mg.L ⁻¹)	AP (%)
F1	385 ± 2 ^a	11,0
F2	404 ± 1 ^b	10,7
F3	403,8 ± 0,5 ^b	10,5
F0	401 ± 1 ^b	10,6

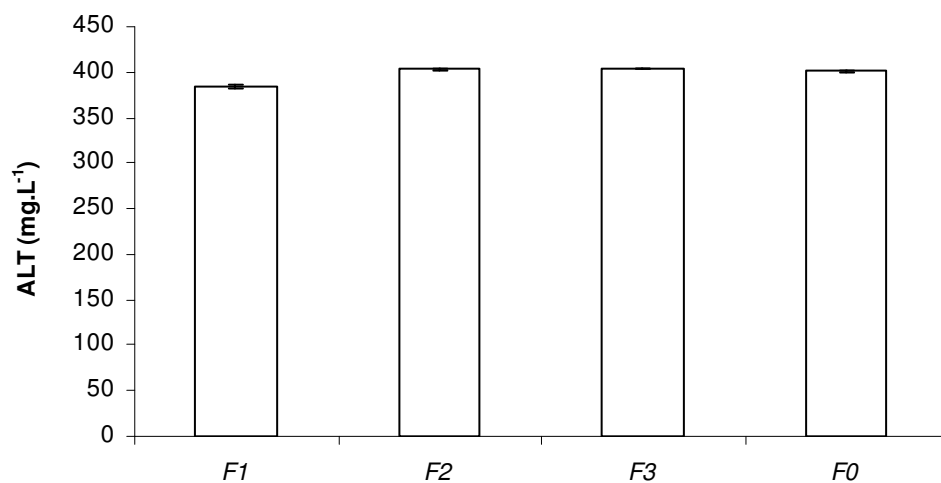


Figura 78. Antocianinas livres (ALT; mg.L⁻¹) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

O vinho engarrafado com rolha de cortiça técnica 1+1 (vedante F1) apresenta uma concentração inferior em antocianinas livres. Este vinho apresenta igualmente um menor teor em antocianinas 3-monoglucósidas (tabela 31), devendo por isso possuir antocianinas mais polimerizadas. Entre os restantes vinhos não se verificam diferenças estatisticamente significativas.

As concentrações em antocianinas 3-monoglucósidas estão reunidas na tabela 31 e na figura 79.

Tabela 31. Composição em antocianinas 3-monoglucosídicas (AMT) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

AMT	F1	F2	F3	F0
Del-3-gluc (mg.L ⁻¹)	12,1	13,3	13,8	14,5
Cia-3-gluc (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
Pet-3-gluc (mg.L ⁻¹)	11,7	12,8	13,1	13,8
Peo-3-gluc (mg.L ⁻¹)	2,9	3,3	3,4	3,6
Mal-3-gluc (mg.L ⁻¹)	47,1	51,4	52,1	53,9
Total ésteres 3-glucósidos (mg.L⁻¹)	73,8 ± 0,2	80,8 ± 0,1	82 ± 1	85,8 ± 0,3
Del-act (mg.L ⁻¹)	3,0	3,4	3,0	3,3
Cia-act (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
Pet-act (mg.L ⁻¹)	0,9	1,0	1,0	1,1
Peo-act (mg.L ⁻¹)	0,3	0,3	0,3	0,3
Mal-act (mg.L ⁻¹)	3,9	4,7	4,5	4,8
Total ésteres acéticos (mg.L⁻¹)	8,2 ± 0,2	9,5 ± 0,1	8,8 ± 0,1	9,5 ± 0,2
Del-cum (mg.L ⁻¹)	0,3	0,3	0,4	0,4
Cia-cum (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
Pet-cum (mg.L ⁻¹)	0,3	nd	0,5	0,6
Peo-cum (mg.L ⁻¹)	0,1	0,2	0,2	0,2
Mal-cum (mg.L ⁻¹)	4,2	4,7	5,0	5,5
Total ésteres cumáricos (mg.L⁻¹)	4,9 ± 0,3	5,19 0,02	6,09 ± 0,08	6,7 ± 0,1
Peo-caf (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
Mal-caf (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
Total ésteres cafeicos (mg.L⁻¹)	nd	nd	nd	nd
Total (mg.L⁻¹)	87,0 ± 0,4 ^a	95,51 ± 0,09 ^b	97 ± 1 ^c	102,0 ± 0,3 ^d

nd: não dectado;

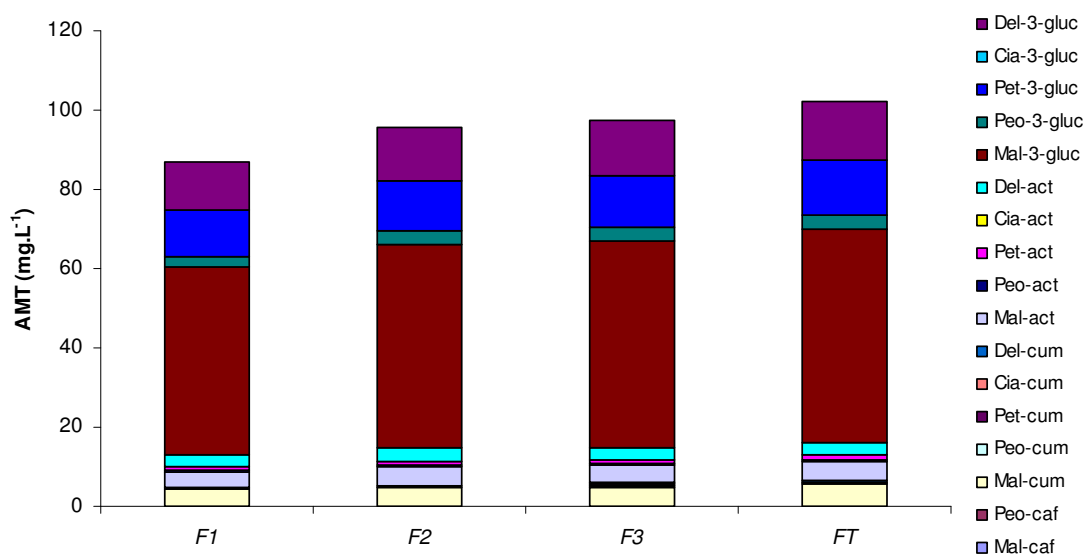


Figura 79. Antocianinas monoglucósidas (AMT; mg.L^{-1}) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; o, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

O perfil cromatográfico obtido na análise das antocianinas 3-monoglucósidas é semelhante ao apresentado na figura 21 (*Material e Métodos*).

A ordem relativa da concentração em antocianinas 3-monoglucósidas é semelhante à observada para as antocianinas livres. Assim, o vinho engarrafado com rolha de cortiça técnica 1+1 é o que apresenta uma menor concentração em antocianinas 3-monoglucósidas, enquanto que o vinho testemunho possui uma concentração mais elevada.

Como se verificou para o ensaio 3 (vinho E), a concentração total é devida fundamentalmente à concentração em ésteres 3-glucósidos (aproximadamente 85 %), seguindo-se os ésteres acéticos. Os ésteres cafeicos não foram detectados nestes vinhos.

Quanto às concentrações individuais de cada antocianina, verifica-se que o 3-glucósido de malvidina (mal-gluc) e os seus ésteres acéticos (mal-act) e cumáricos (mal-cum) foram as antocianinas detectadas em maiores quantidades. O 3-glucósido, o 3-acetilglucósido e o 3-cumaróilglucósido de cianidina (cia-gluc, cia-act e cia-cum, respectivamente) não foram detectados.

4.3. Análise dos flavan-3-óis

O teor em catequinas (CAT) e em procianidinas oligoméricas (PC) dos vinhos F são apresentados na tabela 33 e figura 80.

Tabela 33. Composição em catequinas e em procianidinas oligoméricas dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

FLAVAN-3-ÓIS	F1	F2	F3	F0
B1 (mg.L ⁻¹)	226,0	238,0	222,6	269,6
B2 (mg.L ⁻¹)	50,8	44,0	56,6	56,5
B3 (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd
B4 (mg.L ⁻¹)	14,1	15,7	12,4	13,8
B5 (mg.L ⁻¹)	5,1	5,1	5,2	6,1
B6 (mg.L ⁻¹)	nd	nd	nd	1,4
B7 (mg.L ⁻¹)	2,1	1,0	1,2	2,0
B8 (mg.L ⁻¹)	1,8	1,9	1,3	2,1
B2-galhato (mg.L ⁻¹)	6,3	7,3	6,2	7,3
C1 (mg.L ⁻¹)	8,3	8,4	7,4	8,2
Total (oligómeros) (mg.L⁻¹)	314,4	321,4	312,9	366,9
(+)-catequina (mg.L ⁻¹)	30,9	34,8	31,7	30,6
(-)-epicatequina (mg.L ⁻¹)	29,8	25,2	18,5	27,5
(-)-epicatequina-galhato (mg.L ⁻¹)	1,7	1,5	1,1	2,0
Total (catequinas) (mg.L⁻¹)	62,5	61,4	51,3	60,1
Total (oligómeros e catequinas) (mg.L⁻¹)	377 ± 24^a	383 ± 2^a	364 ± 11^a	427 ± 29^b

nd: não detectado;

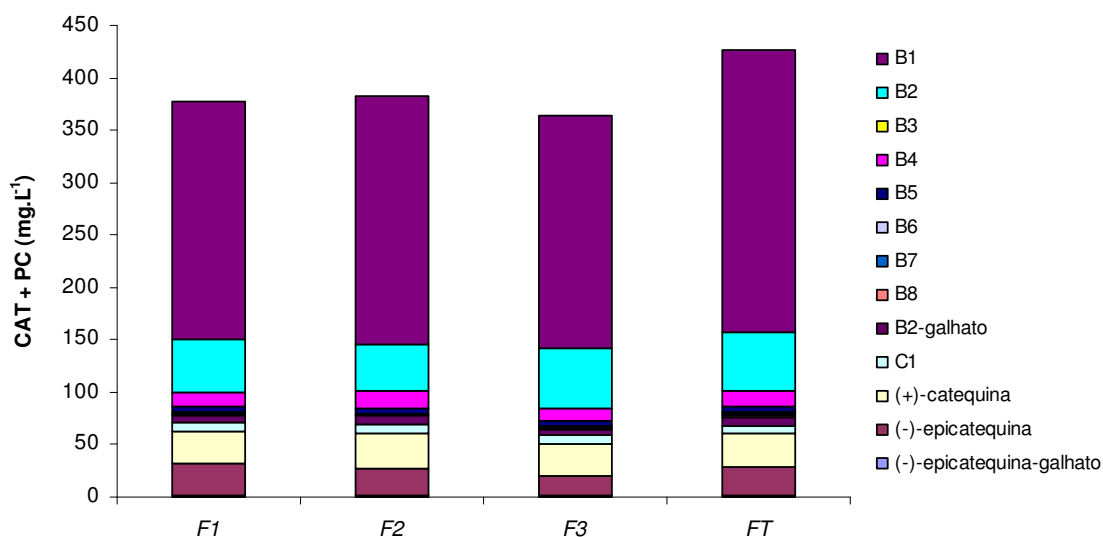


Figura 80. Catequinas e procianidinas oligoméricas dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

O vinho testemunho, que foi mantido em barrica até à sua análise, apresenta uma concentração superior em catequinas e em procianidinas oligoméricas. Entre os restantes vinhos não se verificam diferenças estatisticamente significativas.

Quanto às concentrações individuais de cada procianidina, o dímero B1 foi a procianidina presente em maior quantidade, seguindo-se o dímero B2, o trímero C1 e a B2-galhato. Os dímeros B3 e B6 não foram detectados.

No que diz respeito ao flavanóis monoméricos, a (+)-catequina é o monómero presente em maior concentração, seguindo-se a (-)-epicatequina. Para todas as amostras analisadas, o teor em procianidinas oligoméricas é superior à concentração em unidades monoméricas.

4.4. Análise de taninos condensados, índice de diálise e índice de fenóis totais

Os resultados obtidos no doseamento dos taninos proantociânicos totais estão resumidos na tabela 34 e na figura 81.

Tabela 34. Composição em taninos proantociânicos totais (TPA), índice de diálise (I.D) e índice de fenóis totais (IFT) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma linha, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	TPA (g.L ⁻¹)	I.D	IFT
F1	3,64 ± 0,04 ^a	0,332 ± 0,001 ^a	53,2 ± 0,2 ^a
F2	3,58 ± 0,02 ^a	0,322 ± 0,001 ^b	53,9 ± 0,1 ^b
F3	3,78 ± 0,01 ^c	0,335 ± 0,003 ^a	53,8 ± 0,1 ^b
F0	3,63 ± 0,01 ^a	0,306 ± 0,001 ^c	55,0 ± 0,1 ^c

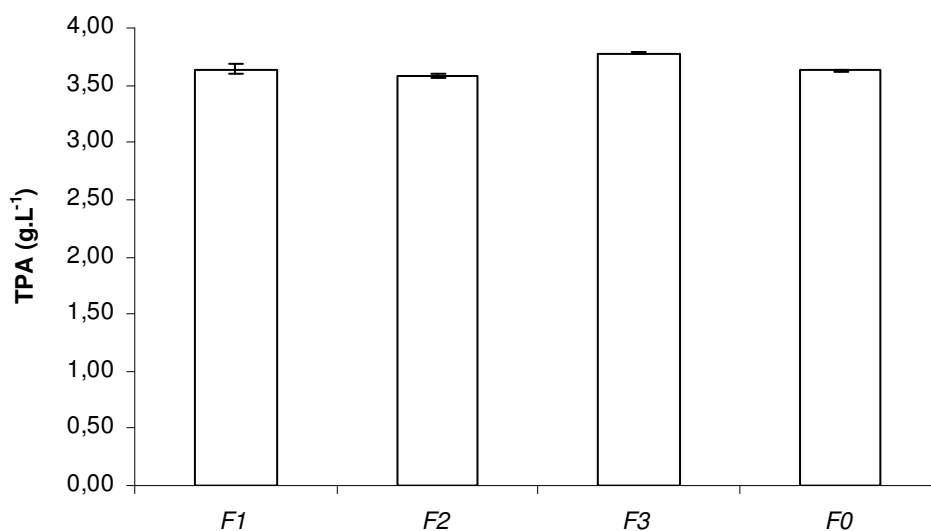


Figura 81. Taninos condensados (TPA; g.L⁻¹) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

O vinho engarrafado com o vedante sintético possui uma concentração superior em taninos condensados. Entre as restantes amostras não se verificam diferenças estatisticamente significativas (figura 81).

Os resultados obtidos no índice de diálise estão resumidos na tabela 34 e na figura 82.

No que diz respeito ao índice de diálise, os vinhos engarrafados com rolha de cortiça técnica 1+1 e com vedante sintético (vedantes F1 e F3, respectivamente) apresentam um valor superior, seguindo-se o vinho engarrafado com rolha de cortiça colmatada (figura 82). O vinho testemunho apresenta um menor índice de diálise, devendo por isso ser constituído por compostos fenólicos estruturalmente mais simples. Estes resultados vêm ao encontro do que se verificou na quantificação dos flavan-3-óis uma vez que este vinho possuía um teor mais elevado, devendo por isso ser constituído por compostos fenólicos menos complexos.

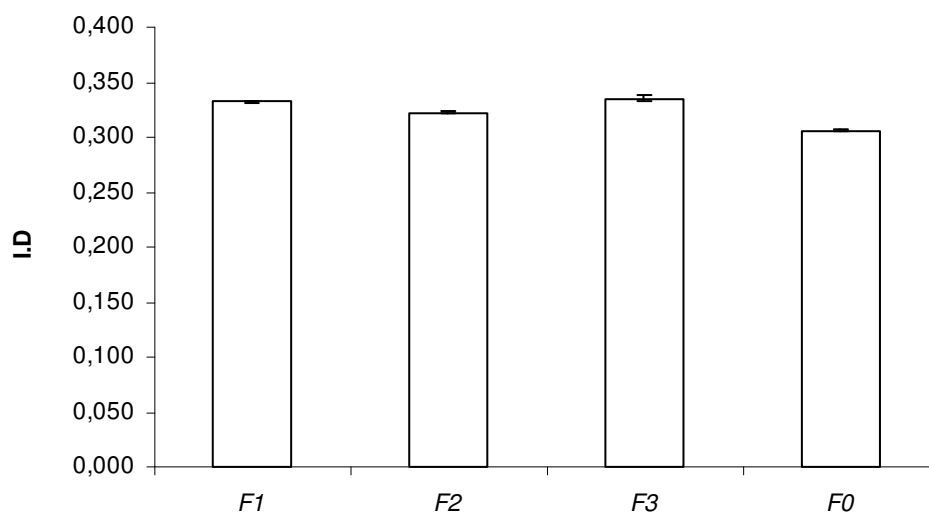


Figura 82. Índice de diálise (I.D) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

Os resultados obtidos no doseamento de fenóis totais estão resumidos na tabela 34 e na figura 83.

Em relação ao índice de fenóis totais (figura 83), verifica-se que o vinho testemunho é o que apresenta um maior teor, seguindo-se os vinhos engarrafados com rolha de cortiça colmatada e com vedante sintético (não há diferenças estatisticamente significativas entre

estes dois vinhos). O vinho engarrafado com a rolha de cortiça técnica (F1) possui um teor mais baixo em compostos fenólicos.

O vinho testemunho permaneceu em barrica até à sua análise. Assim, durante o seu envelhecimento poderá ter extraído da madeira um conjunto de compostos fenólicos que poderão ter contribuído para o aumento do teor final.

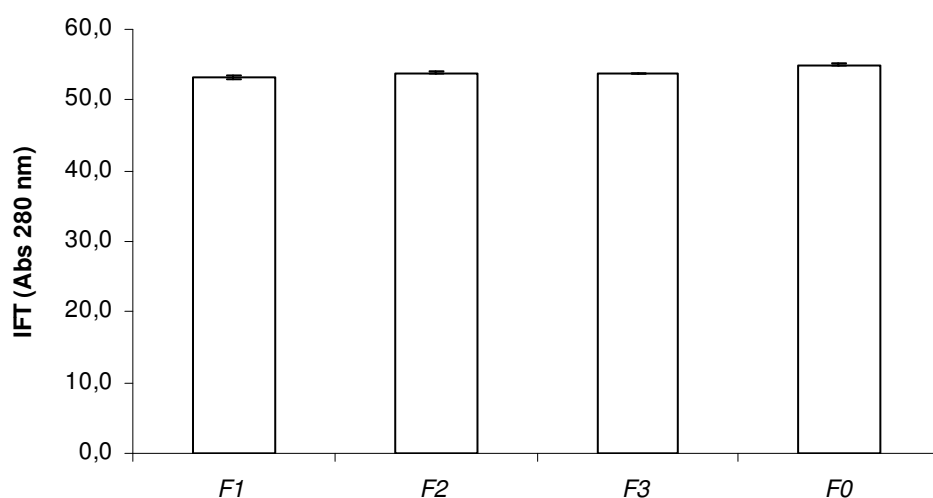


Figura 83. Índice de fenóis totais (IFT) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

4.5. Poder tanante e teor em polissacáridos

Os resultados obtidos para o poder tanante e para o teor em polissacáridos dos vinhos F encontram-se resumidos na tabela 35 e nas figuras 84 e 85.

Tabela 35. Poder tanante (PT) e teor em polissacáridos dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	PT (NTU.mL ⁻¹)	Polissacáridos (g.L ⁻¹)
F1	344 ± 2 ^a	0,142 ± 0,007 ^a
F2	361 ± 6 ^{a, b}	0,156 ± 0,008 ^a
F3	363 ± 9 ^b	0,148 ± 0,007 ^a
F0	328 ± 14 ^a	0,126 ± 0,004 ^b

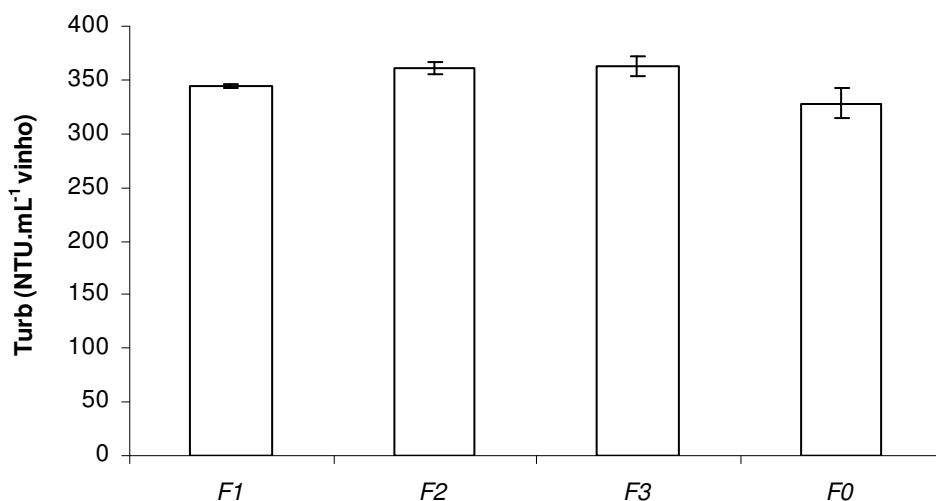


Figura 84. Poder tanante (PT) dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

Na determinação do poder tanante não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os vinhos engarrafados com as rolhas de cortiça (amostras F1 e F2) e o vinho testemunho. Entre os vinhos engarrafados com os diferentes vedantes em estudo, o vinho engarrafado com vedante sintético (amostra F3) possui um maior poder tanante.

Este vinho possui um maior índice de diálise e uma concentração superior em taninos condensados o que poderá justificar os resultados obtidos.

No que diz respeito ao teor em polissacáridos, o vinho testemunho possui um teor mais baixo. Os vinhos engarrafados com rolha de cortiça (amostras F1 e F2) e com vedante sintético (F3) apresentam uma concentração mais elevada em polissacáridos, não se verificando no entanto diferenças estatisticamente significativas entre si (figura 85).

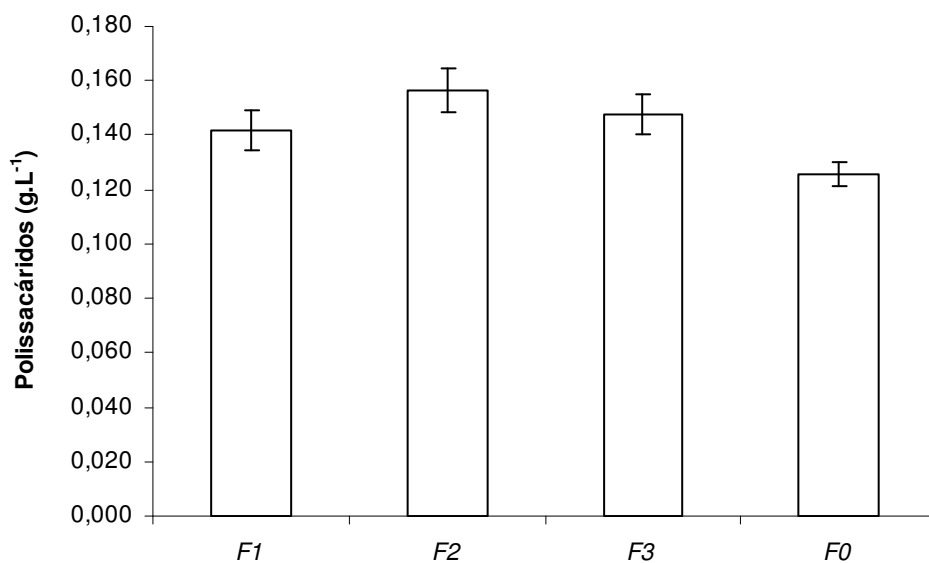


Figura 85. Teor em polissacáridos dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; o, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

4.6. Avaliação da capacidade antiradicalar e do poder redutor

Os resultados obtidos na avaliação da capacidade antiradicalar e do poder redutor estão resumidos na tabela 36 e nas figuras 86 e 87.

Tabela 36. Capacidade antiradicalar e poder redutor dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes: 1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho. Vinho de mesa tinto (colheita 2005) analisado ao fim de 9 meses de engarrafamento. Na mesma coluna, letras diferentes correspondem a amostras significativamente diferentes.

Amostras	Capacidade antiradicalar	Poder redutor
	(μM equivalentes trolox.mL ⁻¹ vinho)	(μM equivalentes trolox.mL ⁻¹ vinho)
F1	45,1 ± 0,9 ^a	228 ± 2 ^a
F2	51 ± 2 ^b	240 ± 3 ^a
F3	52 ± 2 ^b	285 ± 6 ^b
F0	42,0 ± 0,2 ^c	239 ± 13 ^a

Na avaliação da capacidade antiradicalar, verificou-se que os vinhos engarrafados com rolha de cortiça colmatada (F2) e com vedante sintético (F3) apresentam um maior valor, seguindo-se o vinho engarrafado com rolha de cortiça técnica (F1) (figura 86).

O vinho testemunho apresenta uma menor capacidade antiradicalar. Como já foi referido anteriormente, a capacidade antiradicalar de um vinho é influenciada pelo teor em flavan-3-óis. Assim, como o vinho testemunho possui uma concentração superior em catequinas e em procianidinas oligoméricas seria de esperar que apresentasse uma maior capacidade antiradicalar.

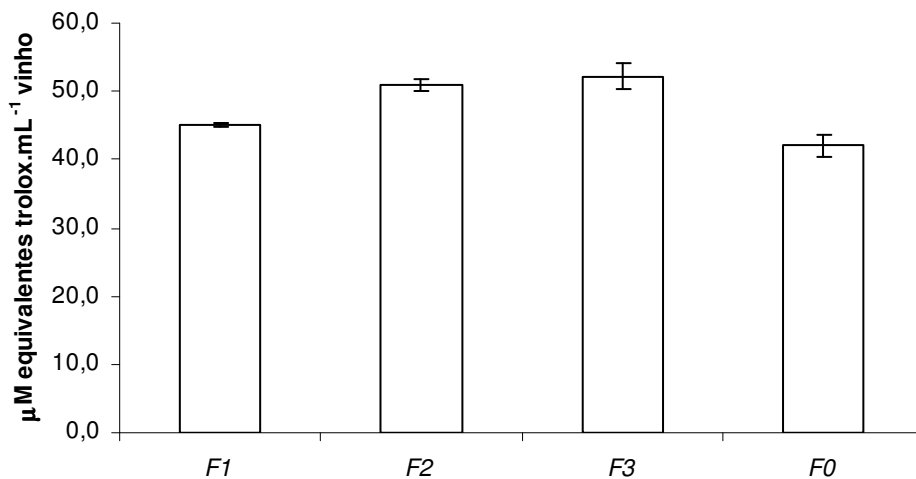


Figura 86. Capacidade antiradicalar dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

No que diz respeito ao poder redutor, o vinho engarrafado com o vedante sintético possui um valor mais elevado, não se verificando diferenças estatisticamente significativas entre os restantes vinhos (figura 87). Tal como se verificou na determinação da capacidade antiradicalar, seria de esperar que o vinho testemunho possuísse um maior poder redutor uma vez que apresenta um teor mais elevado em flavan-3-óis.

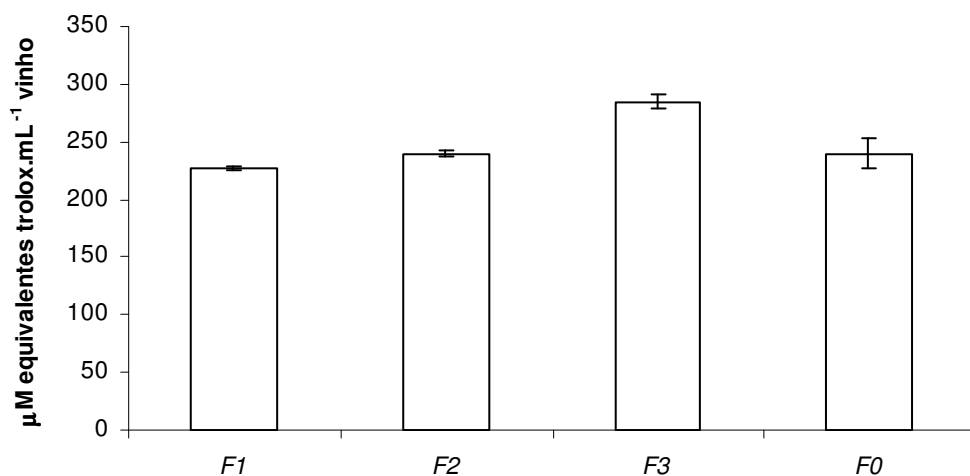


Figura 87. Poder redutor dos vinhos F engarrafados com diferentes tipos de vedantes (1, rolha de cortiça técnica 1+1; 2, rolha de cortiça colmatada; 3, vedante sintético; 0, testemunho) ao fim de 9 meses de engarrafamento.

4.7. Conclusão

Neste último ensaio, verificou-se que o vinho engarrafado com rolha de cortiça colmatada apresentava um maior índice de cor vermelha e um índice de cor superior, seguindo-se os vinhos engarrafados com vedante sintético e com rolha de cortiça técnica 1+1. Os valores obtidos para a primeira amostra foram acompanhados por uma diminuição do valor de luminosidade, devendo ser por isso de um vinho mais opaco.

No caso do vinho testemunho, a maior percentagem da absorvância a 420 nm foi acompanhada por um aumento dos parâmetros colorimétricos b^* e H° , o que poderá indicar desvios para tonalidades mais amarelas.

Este vinho, para além de possuir uma concentração superior em antocianinas 3-monoglucósidas, apresenta igualmente uma maior concentração em flavan-3-óis e um menor índice de diálise que poderá indicar uma menor complexidade estrutural dos seus compostos fenólicos. Para além disto, comparativamente com os vinhos engarrafados, apresenta um maior teor em compostos fenólicos.

O vinho engarrafado com rolha de cortiça técnica 1+1 possui um menor teor em antocianinas livres e em antocianinas 3-monoglucósidas o que poderá significar uma maior polimerização das antocianinas neste vinho.

O vinho engarrafado com o vedante sintético (amostra F3) possui uma concentração mais elevada em taninos condensados e um maior índice de diálise o que poderá ter contribuído para o maior poder tanante evidenciado por este vinho. Para além disto, apresenta uma maior actividade antiradicalar e um maior poder redutor

CONCLUSÕES GERAIS

A entrada de vedantes alternativos à rolha de cortiça natural e a sua rápida aceitação e implementação no mercado criou a necessidade de estudar a interação entre os diferentes vedantes e o vinho, particularmente o seu impacto na composição polifenólica e na capacidade de envelhecimento e maturação de um vinho engarrafado.

Neste trabalho verificou-se que a utilização de diferentes tipos de vedantes provocou alterações na composição físico-química dos vinhos, conferindo-lhes características organolépticas diferentes, nomeadamente a nível da cor. No entanto, estas alterações tornam-se mais notórias para períodos de maturação em garrafa mais prolongados.

Foi possível verificar que os vinhos selados com os vedantes sintéticos Sinteticor[®] e Supremecorq[®] possuem um índice de cor superior, traduzindo-se em vinhos mais opacos. Para além disto, apresentam um desvio para tonalidades mais acastanhadas devido ao aumento da absorvância a 420 nm, como resultado de um processo de envelhecimento mais acelerado do que no caso das rolhas de cortiça natural e dos vedantes *screw-cap*. Este facto é corroborado pela presença de compostos fenólicos mais polimerizados, resultantes provavelmente de fenómenos de polimerização oxidativos.

Em relação aos dois tipos de vedantes Supremecorq[®] analisados (com e sem tratamento de superfície), verificou-se que os vinhos engarrafados com o primeiro vedante possuíam um teor mais baixo em antocianinas monoméricas e em flavan-3-óis, possuindo compostos fenólicos mais polimerizados e mais complexos. Para além disto, evidenciam um desvio para tonalidades mais alaranjadas. Estes resultados pressupõem uma maior permeabilidade ao oxigénio por parte destes vedantes, resultando em fenómenos oxidativos prematuros.

Em relação aos vinhos engarrafados com o vedante sintético Nomacor[®], verifica-se que estes apresentam uma menor contribuição da absorvância a 420 nm o que indicia uma melhor performance destes vedantes em relação à difusão do oxigénio para os vinhos.

Verificou-se que os vinhos engarrafados com rolha de cortiça natural possuem uma concentração superior em polissacáridos, em compostos fenólicos e em catequinas e procianidinas oligoméricas. Aparentemente estes vinhos são estruturalmente mais simples, sendo formados por compostos fenólicos com um menor grau de polimerização.

Para os vinhos engarrafados com *screw-cap*, verificou-se que possuem um teor mais elevado em antocianinas 3-monoglucósidas. No entanto, apesar da concentração superior

em antocianinas, estes vinhos possuem um menor índice de cor. Estes vinhos exibem igualmente compostos fenólicos menos polimerizados. Os resultados obtidos sugerem que este vedante deverá ser menos permeável ao oxigénio, retardando fenómenos de polimerização oxidativa.

Apesar das diferenças verificadas a nível da composição polifenólica dos vinhos, não se produziram alterações significativas com a utilização dos diferentes tipos de vedantes a nível do poder tanante dos vinhos (adstringência).

Na avaliação das propriedades antioxidantes dos vinhos verificou-se que os vinhos engarrafados com rolha de cortiça possuem um maior poder antiradicalar. A maior capacidade de sequestrar radicais livres evidenciada pelos vinhos engarrafados com rolha de cortiça poderá estar relacionada com o seu conteúdo em flavan-3-óis, compostos que exibem um elevado poder antiradicalar.

As alterações cromáticas evidenciadas pelos vinhos engarrafados com vedantes sintéticos e a maior polimerização dos seus compostos fenólicos indiciam um aceleração da maturação destes vinhos através de reacções oxidativas. Assim, a maior disponibilidade de oxigénio nos vinhos engarrafados com vedantes sintéticos pareceu comprometer a sua maturação em garrafa.

Entre os vinhos engarrafados com vedantes *screw-cap* e com rolha de cortiça natural não se verificaram diferenças muito significativas nos parâmetros polifenólicos analisados, nomeadamente a nível da cor e do teor em antocianinas. No entanto, a maior difusão de oxigénio através da rolha de cortiça pareceu conferir a estes vinhos uma evolução mais benéfica. Para além de possuírem um teor mais elevado em compostos fenólicos, as transformações que os compostos fenólicos originais foram sofrendo ao longo do seu envelhecimento, levaram à formação de novos compostos que aparentemente conferiram uma capacidade antiradicalar superior a estes vinhos. Assim, entre os vedantes analisados neste estudo, a rolha de cortiça natural foi o vedante que pareceu conferir ao vinho uma melhor capacidade de envelhecimento e maturação.

No entanto, os avanços tecnológicos levaram ao aparecimento de novos vedantes alternativos que evidenciam propriedades físicas melhoradas, nomeadamente em relação à

permeabilidade ao oxigénio. Assim, seria importante o estudo de outros vedantes existentes no mercado.

Para além disto, seria interessante conhecer de forma mais completa a composição química da cortiça, nomeadamente os compostos fenólicos susceptíveis de migrar e de reagir com os principais constituintes dos vinhos.

O aparecimento de novos compostos com propriedades diferentes dos seus precursores poderá representar um factor de competitividade das rolhas de cortiça, fundamentando cada vez mais a sua utilização como vedante de qualidade.

BIBLIOGRAFIA

Allen, M. Advanced Oenology. Charles Sturt University, **1994**.

Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., Moutounet, M. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Anal. Chim. Acta*, **2002**, *21793*, 1-13.

Ayestarán, B., Guadalupe, Z., León, D. Quantification of major grape polysaccharides (*Tempranillo* v.) released by maceration enzymes during the fermentation process. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *513*, 29-39.

Bakker, J., Timberlake, C. F. Isolation, identification and characterization of new colour-stable anthocyanins occurring in some red wines. *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, 35-43.

Barquette, B., Trione, D. Les tanins. *Actas do 4º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo 1998*, Vol II, 255-261.

Bate-Smith, E. C. Adstringency in foods. *Food*, **1954a**, *23*, 124.

Bate-Smith, E. C. Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency. *Phytochemistry* **1973**, *12*, 907-912.

Beart J., Lilley T., Haslam E. Plant polyphenols secondary metabolism and chemical defense: some observations. *Phytochemistry*, **1985**, *24*, 33-38.

Benzie, I., Strain, J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **1996**, *139*, 70-76.

Billot, J. Evolution des composés phénoliques au cours de la maturation de la Poire Passe-Crassane. *Physiol. Veg.*, **1983**, *21*, 527-535.

Boerjan, W., Chatonnet, P., Baucher, M. Lignin Biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, **2003**, *54*, 519-546.

Bondet, V., Brand-Williams, W., Berset, C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH Free Radical Method. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, **1997**, *30*, 609-615.

Brouillard, R., The *in vivo* expression of anthocyanins colour in plants. *Phytochemistry*, **1983**, *22*, 1311-1323.

Brouillard, R., Lang, J. The hemiacetal-cis-chalcone equilibrium of malvin, a natural anthocyanin. *Canad. J. Chem.*, **1990**, *68*, 755-761.

Cabral, Gil, L. Cortiça: Tecnologia de Processamento e Constituição Química. LNTI, Portugal, **1988**.

Cadahía, E., Conde, E., Fernández de Simón, B., García-Vallejo, M. Proanthocyanidins and ellagitannins in cork of *Quercus suber*. In *Proceedings of the 18th International*

Conference on Polyphenols, Bordeaux; Vercauteren, J., Cheze, C., Triaud, J., Eds. Université Victor Segalen Bordeaux II: Bordeaux, France, **1996**, *I*, 215-216.

Carvalho, J. Propriedades e composição química da cortiça. Instituto Superior Técnico, Lisboa, **1987**.

Castellari, M., Matricardi, L., Arfelli, G., Galassi, S., Amati, A. Level of single bioactive phenolic in red wines as a function of the oxygen supplied during storage. *Food Chem.*, **2002**, *69*, 61-67.

Chatonnet, P., Boidron, J., Pons, M. Elevage des vins rouges en futs de chene : evolution de certains composés volatils et de leur impact aromatique. *Sci. Aliment.*, **1990**, *10*, 565-587.

Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J. Incidence des conditions de fermentation et d'élevage des veins blancs secs en barrique sur leur composition en substances par le bois de chene. *Sci. Aliment.*, **1992**, *120*, 665-685.

Chatonnet, P., Labadie, D., Gubbiotti, M-C. Comparative study of different types of corkage. *Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques*, **2000**, *95*, 7-13.

Conde, E., Cadahía, E., García-Vellejo, Fernández de Simón, B., M., González-Adrados, J. Low molecular weight polyphenols in cork of *Quercus suber*. *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, 2695-2700.

Conde, E., Cadahía, E., García-Vellejo, M., González-Adrados, J. Chemical characterization of reproduction cork from Spanish *Quercus suber*. *J. Wood Chem. Technol.*, **1998**, *18*, 447-469.

Conde, E., Cadahía, E., García-Vallejo, M., Fernández de Simón, B. Polyphenolic Composition of *Quercus suber* cork from different Spanish provenances. *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, *46*, 3166-3171.

Conde, E., García-Vellejo, C., Cadahía, E. Waxes composition of reproduction cork from *Quercus suber* and its variability throughout the industrial processing. *J. Wood Sci. Technol.*, **1999**, *33*, 229-244.

Conner, J., Paterson, A., Piggott, J. Agglomeration of ethyl esters in model spirit solutions and malt whiskies. *J. Sci. Food Agric.*, **1994**, *66*, 45-53.

Conner, J., Paterson, A., Piggott, J. Release of distillate flavour compounds in scotch malt whisky. *J. Sci. Food Agric.*, **1999b**, *79*, 1015-1020.

Czochanska, Z., Foo, L. Y., Porter, L. J. Compositional changes in lower molecular weight flavans during grape maturation. *Phytochemistry* **1979**, *18*, 1819-1822.

Da Luz, P., Serano, J., Chacra, A. The effect of red wine on experimental atherosclerosis: lipid-independent protection. *Exp. Mol. Pathol.*, **1999**, *65*, 150-159.

- Dallas, C., Ricardo da Silva, J. M., Laureano, O. Degradation of oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine during maturation, *Vitis*, **1995**, *34*, 51–56.
- Dallas, C., Da Silva, R., Laureano, O. Interactions of oligomeric procyanidins in model wine solutions containing malvidin-3-glucoside and acetaldehyde. *J. Agric. Food Chem* **1996a**, *70*, 493-500.
- Darné, G. Recherches sur la composition en anthocyanes des grappes et des feuilles de vigne. PhD Thesis. University of Bordeaux I, France, **1991**.
- Davies, A., Mazza, G. Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 716-720.
- De Freitas, V. A. P. Recherches sur les tanins condensés: application à l'étude des structures et propriétés des procyanidines du raisin et du vin. *Thèse Université de Bourdeaux II, France*, **1995**.
- De Freitas, V. A. P., Glories, Y., Bourgeois, G., Vitry, C. Characterization of oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds by liquid secondary ion mass spectrometry. *Phytochemistry*, **1998**, *49*, 1435-1441.
- De Freitas, V. A. P., Mateus, N. Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, *49*(2), 940-945.
- Dufour, C., Bayonove, C. Influence of Wine Structurally Different Polysaccharides on the Volatility of Aroma Substances in a Model System. *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, *47*(2), 671-677.
- Escudero, A., Asensio, E., Cacho, J., Ferreira, V. Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chem.*, **2002**, *77*, 325-331.
- Es-Safi, N., Cheynier, V., Moutounet, M. Role of aldehydic derivates in the condensation of phenolic compounds with emphasis on the sensorial properties of fruit-derived foods. *J. Agric. Food Chem.*, **2002a**, *50*, 5571-5585.
- Francia-Aricha, E. M., Guerra, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C., Santos-Buelga, C. New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, 2262-2266.
- Fulcrand, H., Cameira dos Santos, P. J., Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., Bonvin, J. F. Sctructure of new anthocyanins-derived wine pigments. *J. Chem. Soc., Perkins Trans.*, **1996**, *1*, 735-739.
- García-Vallejo, M., Conde, E. Suberin composition of reproduction cork from *Quercus suber*. *Holzforshung*, **1997**, *51*, 219-224.

Gaulejac, NSC., Vivas, N., de Freitas, V., Bourgeoi, G. The influence of various phenolic compounds on scavenging activity assessed by an enzymatic method. *J. Sci. Food Agric.*, **1999**, 79, 1081-1090.

Godden, P., Francis, L., Field, J., Gishen, M., Coulter, A., Valente, P., Robinson, E. Wine bottle closures: Physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a Semillon wine 1. Performance up to 20 months post-bottling. *Aust. J. Grape wine Res.*, **2001**, 7, 64-105.

Godden, P., Lattey, K., Francis, L., Gishen, M., Cowey, G., Holdstock, M., Robinson, E., Waters, E., Skouroumounis, G., Sefton, M., Capone, D., Kwiatkowski, M., Field, J., Coulter, A., D'Costa, N., Bramley, B. Towards offering wine to the consumer in optimal condition – The wine, the closures and other packaging variables. A review of AWRI research examining the changes that occur in wine after bottling. *Wine Ind. J.*, **2005**, 20(4), 20-30.

Guerra, C. C. Recherches sur les interactions anthocyanes-flavanols: application à l'interprétation chimique de la couleur des vins rouges. *Thèse de Doctorat* **1997**.

Glories, Y. Recherches sur la matière colorante des vins rouges. PhD Thesis. Université de Bordeaux II, France, **1978**.

Haluk, J., Irmouli, M. The fixed polymer constituents in cooperage oak : cellulose, hemicelluloses and lignin. *J. Sci. Tonn.*, **1998**, 4, 43-82.

Haslam, E. *In vino veritas: oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. Phytochemistry*, **1980**, 19, 2577-2582.

Haslam, E. *Practical Polyphenolics. From structure to molecular recognition and physiological action*. Cambridge University Press, Cambridge, **1998**.

Haslam, E., Lilley, T. Natural astringency in foodstuffs: A molecular interpretation. *Critic. Rev. Food Sci. Nutr.*, **1988**, 27, 1-41.

Heredia, F., Francia-Aricha, E., Rivas-Gonzalo, J., Vicario, I., Santos.Buelga, C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes – I. pH effect. *Food Chemistry* **1998**, 63, 491-498.

Ivanov, V., Carr, A., Frei, B. Red wine antioxidants bind to human lipoproteins and protect them from metal-dependent and independent oxidation. *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49, 4442-4449.

Jordão, A. M. Estrutura e composição das proantocinidinas da uva. Evolução ao longo da maturação, **1999**.

Jung, R., Hamatscheck, J. Structure and characteristics of natural cork in relation to its use as cloure material for bottles. *Wein-Wiss.*, **1992**, 47(2), 226-234.

Kirk, K., Higuchi, T., Chang, H. Lignin Biodegradation: Microbiology, Chemistry and Potential applications. Vol. I, II, CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, **1978**.

Klurfeld, D., Kritchevsky, D. Differential effects of alcoholic beverages on experimental atherosclerosis in rabbits. *Exp. Mol. Pathol.*, **1981**, *34*, 62-71.

Laranjinha, J., Cadenas, E. Redox cycles of caffeic acid, tocopherol and ascorbate: implications for protection of low-density lipoproteins against oxidation. *Life*, **1999**, *48*, 57-65.

Lee, C., Jaworski, A. Major phenolic compounds in ripening white grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1989**, *(41)1*, 87-89.

Lee, C., Jaworski, A. Identification of some phenolics in White grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1990**, *1*, 43-46.

Lopes, P., Saucier, C., Teissedre, P-L, Glories, Y. Impact of storage position on oxygen ingress through different closures into wine bottles. *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, *54*, 6741-6746.

Lubbers, S., Charpentier, C., Feuillat, M., Voilley, A. Influence of Yeast Walls on the Behavior of Aroma Compounds in a Model Wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1994**, *45*, 29 - 33.

Macias, V., Pina, I., Rodriguez, L. Factors influencing the oxidation phenomena of sherry wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **2001**, *52*, 151-155.

Mas, A., Puig, J., Llado, N., Zamora, F. Sealing and storage position effects on wine evolution. *J. Food Sci.*, **2002**, *67*, 1374-1378.

Mateus, N., Proença, S., Ribeiro, P., Machado, J. M., De Freitas, V. A. P. Grape and wine polyphenolic composition of red *Vitis vinifera* varieties concerning vineyard altitude. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, **2001c**, *3(2)*, 102-110.

Mateus, N., Silva, A. M. S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C., de Freitas, V. A. P. Identification of anthocyanin-flavanol pigments in red wines by NMR and mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 2110-2116.

Mazzoleni, V., Caldentey, P., Careri, M., Mangia, A., Colagrande, O. Volatile components of cork used for production of wine stoppers. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1994**, *45(4)*, 401-406.

Michaud, J., Lacaze, P., Masquelier, J. Fractionnement des oligomeres flavanoliques du raisin. *Bull. Soc. Pham.* **1971**, *110*, 111-116.

Monagas, M., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B., Laureano, O., Ricardo da Silva, J. M. Monomeric, oligomeric and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. cv. Graciano, Tempranillo and Cabernet Sauvignon. *J. Agric. Food Chem.*, **2003b**, *51*, 6475-6481.

Monagas, M., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B. Evolution of phenolic content of red wines from *Vitis vinífera* L. ageing in bottle. *Food Chemistry*, **2005**, *95*, 405-412.

Moutounet, M., Rigaud, J., Souquet J., Cheynier, V. Caractérisation structurale des tanins de la baie de raisin. Quelques exemples de l'incidence du cépage, du terroir et du mode de conduite de la vigne. *Bull. de O.I.V.* **1996**, *738-784*, 433-443.

Moutounet, M., Mazauric, J. L'oxygène dissous dans les vins. *Rev. Fr. Oenol.*, **2000**, *186*, 12-15.

Nishimura, K., Matsuyama, R. Maturation and maturation chemistry. In *The science and technology of whiskies*, cap 8, 235-263, Piggott, J., Sharp, R., Duncan, R. (Eds.), **1989**, Longman Scientific & Technical, Essex.

Pellerin, P., Cabanins, J. Les glucides du vin-Éléments d'Oenologie, **1998**, Tech & Doc., Lavoisier, Paris, *vol. 1*, 40.

Pereira, H. Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber* L. *Wood Sci. Technol.*, **1988**, *22*, 211-218.

Piggott, J., Conner, J., Clayne, J., Paterson, A., The influence of non-volatile constituents on the extraction of ethyl esters from brandies. *J. Sci. Food Agric.*, **1992**, *59*, 477-782.

Piretti, M., Ghedini, M., Serrazanetti, P. Isolation and identification of polyphenolic and terpenoid constituents of *Vitis vinífera*. *Annal. Chem.* **1976**, *66*, 429-437.

Pissarra, J., Mateus, N., Rivas-Gonzalo, J., Santos-Buelga, C., de Freitas, V. Reaction between malvidin 3-glucoside and (+)-catechin in model solutions containing different aldehydes. *J. Food Sci.*, **2003**, *68*, 476-481.

Pissarra, J., Lourenço, S., González-Paramás, A., Mateus, N., Santos-Buelga, C., de Freitas, V. Formation of new anthocyanin-alkyl/aryl-flavanol pigments in model solutions. *Anal. Chim. Acta*, **2004a**, *513*, 215-221.

Porter, L. J. Flavans and proanthocyanidins. In: *The Flavonoids: Recent advances since 1980*. Ed. Harborne, J. B., Chapman & Hall, **1988**, London.

Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V., Moutounet, M. Oligomeric and Polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 781-784.

Ribéreau-Gayon, P. Les composés phénoliques totaux des végétaux. Dunod, Paris, **1968**, 254.

Ribéreau-Gayon, P., Pontallier, P., Glories, Y. Some interpretations of color changes in young red wines during their conservation. *J. Sci. Food Agric.*, **1983**, *34*, 505-516.

Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E. Dosage des tannins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chim. Anal.*, **1966**, *2*, 627-631.

- Ribichaud, J. L., Noble, A. C. Astringency and bitterness of selected phenolic in wines, *J. Sci. Food Agric.*, **1990**, *53*, 343–353.
- Ricardo da Silva, J. M. Estrutura e composição das procianidinas da uva e do vinho: efeitos potenciais na saúde. *3º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo, Évora, Portugal*, **1995**, *2*, 343-355.
- Ricardo de Silva, J. M., Cheynier, V., Souquet, J., Moutounet, M., Cabanis, J., Bourzeix, M. Interaction of grape seed procyanidins with various protein in relation to wine fining. *J. Sci. Food Agric.*, **1991a**, *57*, 11-125.
- Rice-evans, CA., Miller, NJ., Paganga, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical Biology 6 Medicine*, **1996**, *20*, 933-956.
- Roggero, J. P., Coen, S., Archier, P., Rochevillw-Divorne, C. Étude par C.L.H.P. de la reaction glucoside de malvidine-acétaldéhyde-composé phénolic. *Conn. Vigne Vin*, **1987**, *21*, 163-168.
- Romero, C., Bakker, J. Interaction between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanins composition and color in model solutions. *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, *47*, 3130-3139.
- Romero, C., Bakker, J. Effect of acetaldehyde and several acids on the formation of vitisin A in model wine anthocyanin and colour evolution. *Int. J. Food Sci. Techn.*, **2000**, *35*, 129–140.
- Salagoity-Auguste, M., Bertrand, A. Wine phenolics – analysis of low molecular weight components by HPLC. *J. Sci. Food Agric.* **1984**, *35*, 1241-7.
- Santos-Buelga, C., Scalbert, A. Proanthocyanidins and tannin like compounds- nature occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.*, **2000**, *80*, 1094-1117.
- Silva Ferreira, A., Guedes de Pinho, P., Rodrigues, P., Hogg, T. Kinetics of oxidative spoilage of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 2919-5924.
- Singleton, V. Maturation of wines and spirits: comparisons, facts, and hypotheses. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1995**, *46*, 98-115.
- Singleton, V., Rossi, A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1965**, *16*, 144-158.
- Singleton, V., Trousdale, E., Zaya, J. Oxidation of wines. I. Young white wines periodically exposed to air. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1979**, *30*, 49-53.
- Singleton, V., Trousdale, E. Anthocyanin – Tannin interactions explaining differences in polymeric phenols between white and red wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1992**, *43*, 63-70.

Soleas, G., Grass, L., Josephy, D., Goldber, D., Diamandis, E. A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. *Clinical Biochemistry*, **2002**, *35*, 119-124.

Somers, T. C. The phenolic nature of wine pigments. *Phytochemistry* , **1971**, *10*, 2175–2186.

Sommers, T. C., Evans, M. E. Spectral evaluation of young red wines: Anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, “Chemical Age”. *J. Sci. Food Agric.*, **1976**, *28*, 279-287.

Somers, T. C., Evans, M. E. Evolution of red wines I. Ambient influences on colour composition during early maturation. *Vitis*, **1986**, *25*, 31–39.

Skouroumounis, G., Kwiatkowski, M., Francis, I., Oakey, H., Capone, D., Duncan, B., Sefton, M., Waters, E. The impact of closures type and storage conditions on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine during five years’ storage. *Aust. J. Grape wine Res.*, **2005**, *11*, 369-384.

Sousa, A., Pinto, P., Silvestre, A., Neto, C. Triterpenic and other lipophilic components from industrial cork byproducts. *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, *54*, 6888-6893.

Schwarz, M., Wabnitz, T. C., Winterhalter, P. Pathway leading to the formation of anthocyanin-vinylphenol adducts and related pigments in red wines. *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, *51*, 3682–3687.

Timberlake, C., Bridle, P. Spectral studies of anthocyanins and anthocyanidin equilibrium in aqueous solution. *Nature* **1966**, *212*, 158-162.

Timberlake, C., Bridle, P. Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1976b**, *27*, 97–105.

Thompson, R., Jacques, D., Haslam, E., Tanner, R. Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction; the isolation, structure, and distribution in nature of plant proanthocyanidins. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1972**, 1387-1399.

Varea, S., García-Vellejo, M., Cadahía, E., Fernández de Simón, B. Polyphenols susceptible to migarte from cork stoppers to wine. *Eur. Food. Res. Technol.*, **2001**, *231*, 56-61.

Vidal, S., Doco, T., Moutounet, P. Soluble polysaccharide content at initial time of experimental must preparation. *Am. J. Enol. Vitic.*, **2000**, *51*, 115.

Vinson, J., Teufel, K., Wu, N. Red wine, dealcoholized re wine, and especially grape juice, inhibit atherosclerosis in a hamster model. *Atherosclerosis*, **2001**, *156*, 67-72.

Weinges, K., Kaltenhauser, W., Marx, H., Nader, E., Nader, F., Perner, J., Seler, D. Procyanidine aus fruchten. *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *711*, 184-204.

Whetten, R. W., Mackay, J. J., Sederoff, R. R. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annual Review of plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **1998**, 49, 585-609.

Wildenradt, H., Singleton, V. The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wine ageing. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1974**, 25, 119-126.

Yamakoshi, J., Kataoka, S., Koga, T., Ariga, T. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, **1999**, 142, 139-149.

Zoecklein, B., Fugelsang, C., Gump, B., Nury, S. Wine analysis and production. *The Chapman & Hall Enology Library. International Thompson Publishing* **1995**.

Sites consultados

www.supremecorq.com – 1/09/07

www.nomacorq.com – 1/09/07

www.stelvin.pechiney.com – 1/09/07

www.apcor.pt – 1/09/07

