

**Universidade do Minho**  
Escola de Engenharia

Cátia Margarida Pontes da Silva

## **Refermentação de Cerveja em Garrafa**

Dissertação de Mestrado  
Mestrado Integrado em Engenharia Biológica  
Ramo de Tecnologia Química e Alimentar

Trabalho efetuado sob a orientação do  
**Professor Doutor António Augusto Martins de Oliveira  
Soares Vicente**  
e da  
**Engenheira Ana Isabel Ribeiro**

## DECLARAÇÃO

Nome: Cátia Margarida Pontes da Silva

Título da dissertação: Refermentação de Cerveja em Garrafa

Orientadores:

Professor Doutor António Augusto Martins de Oliveira Soares Vicente

Engenheira Ana Isabel Ribeiro

Ano de conclusão: 2015

Mestrado Integrado em Engenharia Biológica

Ramo de Tecnologia Química e Alimentar

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA DISSERTAÇÃO.

Universidade do Minho, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **AGRADECIMENTOS**

Ao longo desta jornada foram muitas as pessoas que ajudaram, apoiaram, deram conselhos e incentivaram, contribuindo assim para a realização deste projeto. A todas essas pessoas imprescindíveis no desenvolvimento deste trabalho, devo um agradecimento especial.

Ao Departamento de Engenharia Biológica por ter proporcionado a oportunidade de conhecer a realidade industrial, assim como à Unicer por este motivo e ainda por ter contribuído com um apoio financeiro para fazer face às despesas de deslocação.

À Murganheira, à Amorim, à Closures Experts e à A2V, empresas que forneceram serviços e materiais indispensáveis na realização deste projeto.

Ao meu orientador, o Professor António Vicente pela partilha de conhecimento, disponibilidade, simpatia e prontidão durante todo o desenvolvimento deste projeto.

À Engenheira Ana Isabel Ribeiro por todo o conhecimento transmitido, pela orientação, por estar sempre pronta a ajudar, pela simpatia, pelo incentivo e força para ultrapassar os obstáculos, atributos que foram fundamentais para o desenvolvimento deste projeto.

À Engenheira Cristina Silva e a toda a equipa de Investigação e Desenvolvimento da Unicer por me terem feito sentir tão bem integrada durante o meu estágio, por toda a ajuda, apoio, orientação e disponibilidade, e pelos momentos de riso, diversão e companheirismo.

A todos os colaboradores da Unicer pela simpatia, prontidão e disponibilidade indispensáveis na realização de determinadas tarefas.

A todos meus amigos, em especial à Joana, Louise, Adriana, Sara e Liliana, pela amizade durante esta jornada, pela presença nos bons e nos maus momentos, por todo o apoio, pela paciência, pelo carinho, pela força e motivação, pelas ideias, pelas gargalhadas e diversão.

Agradeço à minha família, principalmente à minha mãe, à minha avó e à minha tia, pelo exemplo de coragem, pelo apoio incondicional, pela ternura, pela paciência, por se terem sacrificado para poder chegar até aqui, sem vocês não teria sido possível.

Ao Hélder, o meu porto seguro, a pessoa que teve sempre comigo em todos os momentos, me encorajou, apoiou, elogiou, consolou nos momentos difíceis, partilhou a alegria dos momentos de felicidade, me fez sentir mais forte e mais capaz de levar esta tarefa até ao fim.

Um profundo e sentido obrigado a todos os vocês, sem os quais o sucesso deste projeto não seria possível!



## RESUMO

O presente projeto foi desenvolvido durante o estágio curricular realizado nas instalações da Unicer Bebidas SA em Leça do Balio, e teve como tema a refermentação de cerveja em garrafa. O principal objetivo consistiu em realizar um estudo sobre o método de refermentação em garrafa, abordando assim todas as variáveis associadas a este processo, as quais englobam as matérias-primas, os materiais e equipamentos, bem como os parâmetros físico-químicos e microbiológicos associados ao processo, de forma a conseguir obter um produto de boa qualidade.

Este projeto foi dividido essencialmente em três etapas, iniciando-se com a caracterização das cervejas do mercado fermentadas em garrafa, seguindo-se os ensaios laboratoriais tendo em vista a produção da nova cerveja e por fim os ensaios em escala piloto. O objetivo da primeira etapa foi conhecer os produtos existentes no mercado, saber quais os preferidos através de uma prova, e analisar as suas características físico-químicas. A segunda etapa consistiu em desenvolver cervejas com refermentação em garrafa. Durante esta fase, foram efetuados 14 ensaios distintos, nos quais foram testadas 7 cervejas, 2 tipos de açúcar e 4 estirpes de levedura. O objetivo consistiu em elaborar uma cerveja cujas características físico-químicas fossem satisfatórias para que pudesse ser levada a uma prova sensorial para avaliação da preferência dos provadores. A última etapa consistiu em reproduzir à escala piloto os ensaios que levaram aos dois produtos favoritos na segunda etapa, engarrafadas em garrafas de 75 cL, introduzindo o método *Champenoise*.

Como conclusão da primeira etapa foi possível perceber que o mercado é muito diversificado, porém a preferência recaiu sobre cervejas claras com níveis de amargor baixos. Assim sendo, na segunda etapa testaram-se essencialmente cervejas brancas, e os testes sensoriais mostraram que a preferência recaiu sobre os produtos que foram desenvolvidos com cerveja-base de trigo e *pilsener* (Cristal). Nesta etapa concluiu-se ainda que o açúcar amarelo teve um melhor desempenho que o mosto, e das leveduras destacou-se a WLP400. Na terceira e última etapa foi desenvolvida uma cerveja de trigo cujo método de refermentação foi o *priming*, utilizando como ingredientes açúcar amarelo e a levedura WLP400. Foram ainda desenvolvidas três cervejas pelo método Champenoise, com açúcar amarelo e a WLP400, sendo que a preferida foi refermentada na garrafa (selada com obturador e cápsula) nas caves da Murganheira a 14 °C.

O produto encontra-se em fase de produção para comercialização.

**Palavras-chave:** Refermentação em garrafa, Cerveja, Açúcar, Levedura, Método Champenoise.



## ABSTRACT

This project was developed during the traineeship held in Unicer Bebida SA's facilities in Leça do Balio, and had as its theme the re-fermentation of beer in the bottle. The main objective was to conduct a study on the bottle re-fermentation method, thereby addressing all variables associated with this process, which include raw materials, materials and equipment as well as the physical, chemical and microbiological parameters associated with the process, in order to obtain a high quality product.

This project was essentially divided in three stages, starting with the characterization of market beers re-fermented in the bottle, followed by laboratory tests regarding the production of a new beer and finally testing on a pilot scale. The objective of the first stage was to understand the products on the market, know which one is the preferred by a tasting panel, and to analyze their physical and chemical characteristics. The second stage was to develop beers with re-fermentation in the bottle. During this phase, 14 different tests were made, in which 7 beers, 2 kinds of sugar and 4 yeast strains were tested. The goal was to develop a beer whose physicochemical characteristics were satisfactory so it could be brought to a sensory test to evaluate the preference of tasters. The last stage was to reproduce at pilot scale the trials that led to the two favorite products in the second stage, bottled in bottles of 75 cL, introducing the *Champenoise* method.

In conclusion of the first stage it was revealed that the market is very diverse, but the choice fell on clear beers with low levels of bitterness. Therefore, in the second stage mainly white beers were tested, and sensory tests showed that the preference went for the products that were developed with wheat beer base and pilsener (Cristal). At this stage it was concluded also that the brown sugar performed better than wort, and the yeast that stood out was WLP400. In the third and final stage a wheat beer was developed using "priming" as re-fermentation method, using brown sugar and yeast WLP400 as ingredients. Three other beers were also developed by the *Champenoise* method, with brown sugar and WLP400, and the favorite was re-fermented in the bottle (with shutter and sealed capsule) at 14 °C in the cellars of Murganheira.

The product is in production stage for commercialization.

**Keywords:** Bottle Refermented, beer, sugar, yeast, Champenoise method



# ÍNDICE

Agradecimentos .....	iii
Resumo .....	v
Abstract .....	vii
Lista de Figuras .....	xiii
Lista de Tabelas .....	xv
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos .....	xvii
1. Introdução .....	1
1.1 Enquadramento e objetivos do trabalho .....	1
1.2 Apresentação da Empresa .....	2
2. Fundamentos teóricos .....	5
2.1 Matérias-primas utilizadas na produção de cerveja .....	5
2.1.1 Água .....	5
2.1.2 Malte .....	6
2.1.3 Cereais não maltados .....	6
2.1.4 Lúpulo .....	6
2.2 Levedura .....	7
2.3 Tipos de fermentação de cerveja .....	7
2.3.1 Cerveja de alta fermentação ( <i>ale</i> ) .....	7
2.3.2 Cerveja de baixa fermentação ( <i>lager</i> ) .....	8
2.4 Classificação dos tipos de cerveja .....	8
2.5 Processo de produção .....	9
2.5.1 Maltagem .....	10
2.5.2 Moagem .....	10
2.5.3 Brassagem .....	10
2.5.4 Filtração do mosto .....	11
2.5.5 Ebulição do mosto .....	11
2.5.6 Clarificação (decantador) .....	12
2.5.7 Arrefecimento e arejamento do mosto .....	12
2.5.8 Propagação e Armazenamento da Levedura .....	12

2.5.9	Fermentação .....	13
2.5.10	Maturação e Estabilização.....	15
2.5.11	Filtração da cerveja.....	16
2.5.12	Diluição da cerveja e adição do CO <sub>2</sub> .....	16
2.5.13	Enchimento .....	16
2.5.14	Pasteurização .....	17
2.5.15	Rotulagem e embalagem .....	18
2.6	Fermentação em garrafa.....	18
2.6.1	Processo de fermentação.....	19
2.6.2	Método <i>Champenoise</i> .....	20
2.6.3	Açúcar.....	22
2.6.4	Dióxido de Carbono.....	23
2.6.5	Levedura .....	23
2.6.6	Tipo de embalagem .....	25
2.6.7	Boas práticas durante o processo .....	26
2.7	Análise da Qualidade da cerveja.....	27
2.7.1	Monitorização Físico-Química .....	27
2.7.2	Análise microbiológica .....	34
2.7.3	Análise Sensorial .....	36
3.	Métodos de Análise .....	39
3.1	Monitorização físico-química .....	39
3.1.1	Extratos (Primitivo, Aparente e Real), Atenuação, Álcool, Coloração e pH .....	39
3.1.2	CO <sub>2</sub> .....	39
3.1.3	Diacetilo e Pentanodiona.....	40
3.1.4	Estabilidade de Espumas .....	40
3.1.5	Unidades de Amargor .....	40
3.1.6	SO <sub>2</sub> Total .....	41
3.1.7	Turvação .....	41
3.1.8	Álcoois e Ésteres, Acetaldeído e DMS.....	42
3.2	Análise Microbiológica .....	42

3.2.1	Contagem de células .....	42
3.2.2	Percentagem de células mortas .....	42
3.2.3	Nocivos/ Não nocivos .....	43
3.3	Análise Sensorial .....	43
3.3.1	Avaliação Organolética .....	43
3.3.2	Teste Triangular.....	44
3.3.3	Estabilidade Organolética .....	44
4.	Descrição dos Ensaio e Procedimentos .....	47
4.1	1ª Etapa: Caracterização das cervejas do mercado fermentadas na garrafa .....	47
4.2	2ª Etapa: Ensaio Laboratoriais.....	48
4.3	3ª Etapa: Ensaio Piloto.....	52
5.	Apresentação e Discussão de Resultados.....	65
5.1	1ª Etapa: Caracterização das cervejas do mercado fermentadas na garrafa .....	65
5.2	2ª Etapa: Ensaio Laboratoriais.....	70
5.3	3ª Etapa: Ensaio Piloto.....	75
6.	Conclusões.....	89
7.	Recomendações Futuras .....	93
	Bibliografia .....	95
	Anexo I – Boletins de prova.....	101
	Anexo II – Exemplo De Cálculo.....	103



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Matérias primas utilizadas na produção de cerveja: a) água, b) lúpulo, c) malte e d) cereais não maltados (reproduzido de Cavallero, n.d.).....	5
Figura 2. Etapas do processo de produção de cerveja (reproduzido de Encyclopaedia Britannica, n.d.).	9
Figura 3. Perfil de fermentação e respetivas alterações ocorridas ao longo do tempo (reproduzido de Munroe, 2006b).....	14
Figura 4. “Pupitres” utilizados no método tradicional de <i>remuage</i> (a) e respetivas posições que a garrafa vai ocupando ao longo do tempo (b) (adaptado de Kimexco, n.d.).....	21
Figura 5. “Riddling cage” utilizada no método mecânico de <i>remuage</i> . ....	21
Figura 6. Distintos formatos de cervejas fermentadas em garrafa existentes no mercado: a) Fullers 1845 (Inglaterra); b) The bruery – Saison Rue (USA); c) Erdinger Oktoberfest-Weizen (Alemanha); d) The Gravoche (França); e) Arend Blond 33 cL (Bélgica); f) Barbär 33 cL (Bélgica); g) Duvel (Bélgica); h) Deus (Bélgica); i) Eisenbahn Lust (Brasil) (adaptado de Belgian Happiness, n.d.; RateBeer, n.d.).....	25
Figura 7. Rolha utilizadas em cervejas fermentadas na garrafa: a) cápsula metálica, b) rolha e arame, c) wire-labe top (adaptado de Belgian Happiness, n.d.; RateBeer, n.d.).....	26
Figura 8. Procedimento dos ensaios laboratoriais: a) Cerveja em agitação, b) Pesagem do açúcar, c) Pesagem do mosto e d) Levedura.....	50
Figura 9. Procedimento dos ensaios laboratoriais: a) Pesagem da levedura, b) Adição de água pura e c) Período de repouso. ....	50
Figura 10. Procedimento dos ensaios laboratoriais: a) e b) Enchimento, c) Colocação da cápsula. ....	51
Figura 11. Procedimento dos ensaios laboratoriais: a) Identificação das garrafas e b) Armazenamento. ....	51
Figura 12. Procedimento do Bottle 10.1: a) Fabrico do mosto, b) Fermentação e maturação e c) Filtração.....	53
Figura 13. Procedimento do Bottle 10.1: a) Tanqueta utilizada para a transferência do açúcar, b) Propagador de levedura.....	54
Figura 14. Procedimento do Bottle 10.1: a) Introdução de CO <sub>2</sub> , b) Máquina de enchimento e do lado direito o equipamento que coloca rolha e arame, c) Capsulador manual.....	55

Figura 15. Procedimento do Bottle 10.1: a) Identificação das garrafas do Bottle 10.1 e b) Armazenamento do ensaio. ....	56
Figura 16. Plano geral dos ensaios com a cerveja base <i>lager</i> . ....	58
Figura 17. Plano dos ensaios que envolvem o método <i>Champenoise</i> . ....	58
Figura 18. Procedimento do Bottle 11.x: a) Máquina de enchimento, b) Recipiente com obturadores e capsulador automático (à direita) e c) Equipamento de colocação da rolha e arame. ....	60
Figura 19. Procedimento do Bottle 11.x: a) Bottle 11.1 armazenado na Unicer e b) Bottle 11.2 e Bottle 11.3 armazenados na Murganheira. ....	60
Figura 20. Plano de amostragem para o mês de Abril. ....	71
Figura 21. Comparação entre os resultados obtidos, através da análise ao longo do tempo de refermentação, para o extrato aparente (a) e o extrato real (b), dos ensaios Bottle 5.3 (açúcar amarelo) e Bottle 5.4 (mosto). ....	74
Figura 22. Diagrama da brassagem da cerveja de trigo. ....	75
Figura 23. Diagrama da fermentação da cerveja de trigo. ....	76
Figura 24. Dados recolhidos durante o acompanhamento do ensaio Bottle 10.1. ....	77
Figura 25. Dados recolhidos durante o acompanhamento dos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3: a) Extrato Aparente, b) CO <sub>2</sub> , c) Álcool e d) Diacetilo. ....	81
Figura 26. Dados recolhidos durante o acompanhamento do ensaio Bottle 11.4. ....	86

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tempo de prateleira (em meses) e teor alcoólico (em % v/v) de algumas das marcas de cervejas refermentadas na garrafa (Beverage, n.d.; Dibevit, n.d.; Duvel, n.d.) .....	19
Tabela 2. Estirpes de levedura utilizadas em processos de fermentação em garrafa.....	24
Tabela 3. Séries apresentadas na análise sensorial, as cervejas correspondentes e respetivos teores de álcool .....	47
Tabela 4. Ensaio laboratoriais realizados, matérias-primas e respetivos objetivos.....	48
Tabela 5. Matérias-primas utilizadas nos ensaios laboratoriais e respetivos locais de origem .....	49
Tabela 6. Ensaio submetidos a prova sensorial.....	52
Tabela 7. Programas de pasteurização utilizados nos ensaios Bottle 6.1 e Bottle 7.1 (UP – Unidade de Pasteurização).....	52
Tabela 8. Análises realizadas no Bottle 10.1 e respetivos momentos de análise .....	56
Tabela 9. Programa de pasteurização de 20 UPs utilizado nas garrafas 75 cL .....	57
Tabela 10. Análises realizadas no Bottle 11.x e respetivos momentos de análise .....	61
Tabela 11. Cervejas fermentadas na garrafa existentes no mercado, e respetivas características principais .....	65
Tabela 12. Principais resultados da série 1 apresentada na análise sensorial.....	66
Tabela 13. Principais resultados da série 2 apresentada na análise sensorial.....	67
Tabela 14. Principais resultados da série 3 apresentada na análise sensorial.....	68
Tabela 15. Principais resultados da série 4 apresentada na análise sensorial.....	68
Tabela 16. Principais resultados das séries 5 e 6 apresentadas na análise sensorial.....	69
Tabela 17. Resultados obtidos nas análises físico-químicas .....	70
Tabela 18. Parâmetros físico-químicos analisados nas cervejas finais dos ensaios Bottle.....	72
Tabela 19. Avaliação sensorial dos ensaios selecionados para serem submetidos a prova.....	74
Tabela 20. Resultados das análises em duplicado do ensaio Bottle 10.1 relativos a três datas diferentes .....	77
Tabela 21. Resultados representativos das características do produto final obtido no ensaio Bottle 10.1 .....	78
Tabela 22. Resultados representativos da análise aos álcoois/ésteres do produto do ensaio Bottle 10.1 .....	79

Tabela 23. Resultados obtidos na avaliação organolética do produto final obtido no ensaio Bottle 10.1 .....	79
Tabela 24. Resultados obtidos no teste triangular do produto final obtido no ensaio Bottle 10.1 .....	80
Tabela 25. Resultados obtidos na estabilidade organolética do produto final obtido no ensaio Bottle 10.1.....	80
Tabela 26. Resultados representativos das características dos produtos finais obtidos nos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3.....	82
Tabela 27. Resultados representativos da análise aos álcoois e ésteres dos produto dos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3.....	83
Tabela 28. Resultados obtidos na avaliação organolética dos produto finais obtidos nos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3.....	84
Tabela 29. Resultados obtidos no teste triangular do produto final obtido no ensaio Bottle 11.1 .....	85
Tabela 30. Resultados obtidos na estabilidade organolética dos produtos finais obtidos nos ensaios Bottle 11.1 a 11.3.....	85
Tabela 31. Resultados representativos das características do produto final obtido no ensaio Bottle 11.4 .....	86
Tabela 32. Resultados representativos da análise aos álcoois/ésteres do produto do ensaio Bottle 11.4 .....	87

## ANEXOS

Tabela I. Resultados dos cálculos realizados para a obtenção da concentração de CO <sub>2</sub> que os açúcares do mosto tem capacidade de produzir .....	104
---	-----

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS**

AML: American Lager

BU: Bitterness Unit

CIP: Cleaning in Place

DMS: Dimetilsulfureto

DMSO: Dimetilsulfóxido

EBC: European Brewery Convention

FID: Flame Ionization Detector

IP: Instalação Piloto

IBU: International Bitterness Unit

KG: Kieselguhr

MF: Mini-Fábrica

NIR: Near Infra-Red

PVPP: Poli-vinil-poli-pirrolidona

SBSA: Super Bock Sem Álcool

SMR: Standard Reference Method

SMM: S-metilmetionina

UA: Unidades de Amargor

UP: Unidades de Pasteurização



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Enquadramento e objetivos do trabalho

Atualmente, a cerveja é terceira bebida mais consumida do mundo, a seguir à água e ao chá, sendo mesmo a bebida alcoólica mais consumida do mundo. Presume-se que a cerveja tenha sido das primeiras bebidas alcoólicas criadas pelo ser humano.

De acordo com a legislação portuguesa, nomeadamente a Portaria n.º 1/96 de 3 de Janeiro, a cerveja é definida como “uma bebida obtida por fermentação alcoólica, mediante leveduras selecionadas do género *Saccharomyces*, de um mosto preparado a partir de malte de cereais, principalmente cevada, e outras matérias-primas amiláceas ou açucaradas, ao qual foram adicionadas flores de lúpulo ou seus derivados e água potável”.

A cerveja tem como base quatro ingredientes principais, os cereais (maltados ou não, sendo a cevada o mais utilizado), o lúpulo, a água e a levedura. A produção de cerveja trata-se de um processo complexo que permite variar diversos parâmetros, os quais tem influência direta no tipo e qualidade da cerveja. Alguns dos fatores relevantes na produção da bebida alcoólica em questão, são a fonte e as características da matéria-prima utilizada, processo fermentativo selecionado e condições operatórias (temperatura, pH, concentração, entre outras). Entre as características que distinguem os diferentes tipos de cervejas e auxiliam a sua classificação, encontra-se o tipo de fermentação (alta, baixa, segunda ou terceira fermentação), o teor alcoólico, as concentrações de malte e lúpulo, os teores de extrato primitivo, a cor do produto final (Goldammer, 2008; Magalhães et al., 2009; Papazian, 2006).

Nos últimos anos, tem-se denotado uma evolução no mercado das cervejas especiais, característico da crescente curiosidade do consumidor por este tipo de produtos. Os produtores de cerveja têm partido à descoberta de novidades que se alinhem na perfeição com o produto em questão, procurando assim novos ingredientes para a aquisição de sabores irreverentes, e ainda procurando o melhor de outros produtos muito respeitados, como as bebidas brancas ou os vinhos. O método de refermentação na garrafa foi originalmente desenvolvido para a carbonatação da cerveja, tal como nos vinhos espumantes. Dom Perignon, na Abadia de Hautvillers (França), foi o primeiro a descrever a técnica da fermentação em garrafa para vinhos brancos, denominados “Champanhe”. O processo de fermentação na garrafa contribui duplamente para a qualidade final da cerveja, por um lado confere

carbonatação à bebida, e por outro, remove o oxigênio presente que foi adquirido durante a etapa de enchimento, eliminando o impacto negativo deste composto. A fermentação em garrafa é principalmente aplicada em cervejas *ale* com elevados níveis de etanol (6 % a 11 %), produzidas na Bélgica e no Norte de França. Outro tipo de cervejas populares nesta técnica, são as cervejas brancas de trigo alemãs e belgas (menos de 6 % de álcool) (Boekhout & Robert, 2003; Oliver, 2011a).

Nas cervejas refermentadas na garrafa a complexidade deve-se à presença da levedura, uma vez que esta se mantém viva, pode sintetizar lentamente novos sabores e, os que já constituem a cerveja tornam-se mais profundos. Neste tipo de cerveja, a levedura forma um sedimento no fundo da garrafa, sendo ela considerada como parte integral da bebida. Ou ainda, se o produtor preferir a levedura pode ser removida após a refermentação terminar, devendo a cerveja ser cuidadosamente decantada, deixando a levedura e o mínimo de cerveja possível na garrafa. De uma forma geral, uma cerveja refermentada na garrafa resulta num produto com um perfil de aroma e sabor muito diferenciado, o qual se deve aos produtos secundários que este tipo de fermentação proporciona, concedendo assim ao consumidor uma experiência única (Oliver, 2011a; Young & Lewis, 2002).

Posto isto a Unicer Bebidas SA, uma empresa com um grande historial na produção de cerveja, mostrou querer aumentar o seu conhecimento sobre este tipo de produto, podendo ser posteriormente implementado na criação de uma nova cerveja cujo processo inclui a refermentação em garrafa. Assim, o objetivo principal desta dissertação consistiu no estudo de um novo produto derivado da refermentação na garrafa e todas variáveis a ele associadas, como as matérias-primas, os materiais e equipamentos, e também os parâmetros físico-químicos e microbiológicos do próprio processo, de forma a ir de encontro a um produto final com qualidade satisfatória para cativar os consumidores.

## **1.2 Apresentação da Empresa**

A Unicer Bebidas SA é uma empresa de renome que está há longos anos intimamente ligada à produção de cerveja. As suas origens remontam à Companhia União Fabril Portuguesa das Fabricas de Cerveja e Bebidas Refrigerantes, popularizada como CUF, a qual foi constituída como resultado da fusão de sete empresas, a 7 de Março de 1890. Posteriormente, em 1977 ocorreu a transformação da CUF em Unicer – União Cervejeira E.P., na qual foram fundidas à CUF a COPEJA, a IMPERIAL e a RICAL.

A Unicer está presente em diversas áreas além da produção de cerveja, como a produção e comercialização de vinho (Quinta do Minho, Planura), refrigerantes (Frisumo, Snappy), sidras

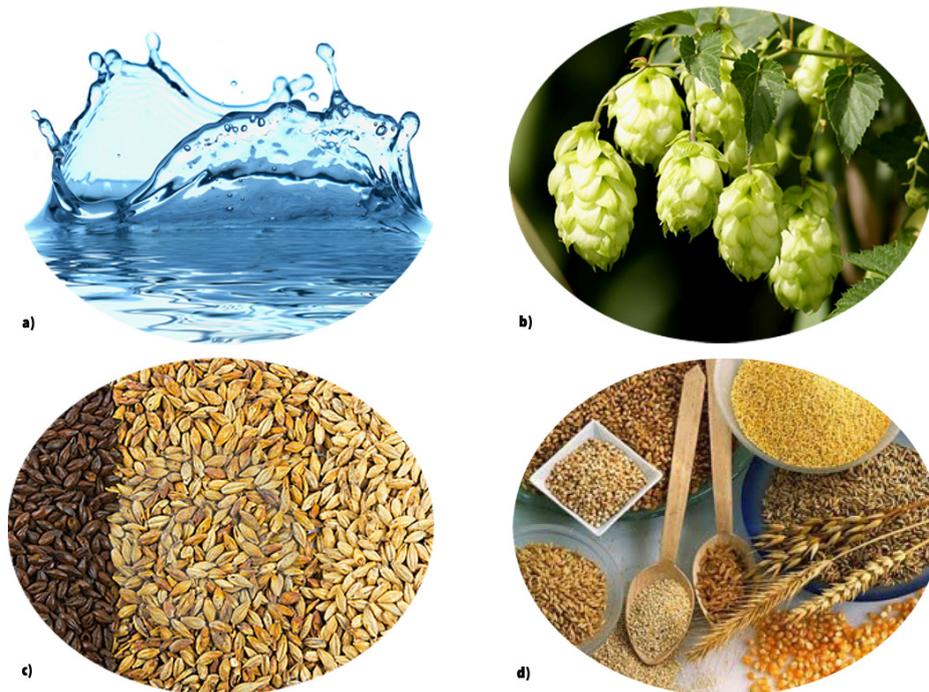
(Somersby), água (Vitalis, Pedras Salgadas) e ainda na produção de malte. Entre as diversas marcas líderes de mercado que possui, encontram-se a Super Bock e Carlsberg, que são duas marcas de cerveja que acarretam consigo um historial notável. A Unicer possui diversas instalações, no entanto a instalação que está particularmente ligada à produção de cerveja é a que se situa na Leça do Balio, aí existente desde 1964, construída sob a autoria da CUIP. A Unicer é uma empresa, onde o espírito de equipa predomina e cujo principal objetivo consiste em onde quer que esteja presente, fazer com que os seus produtos sejam sempre a escolha principal dos consumidores (Unicer, 2015a).



## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 2.1 Matérias-primas utilizadas na produção de cerveja

Os ingredientes principais envolvidos na produção de cerveja são a água, o malte, os cereais não maltados e o lúpulo, apresentados na Figura 1.



**Figura 1.** Matérias primas utilizadas na produção de cerveja: a) água, b) lúpulo, c) malte e d) cereais não maltados (reproduzido de Cavallero, n.d.).

#### 2.1.1 Água

A água é um composto de elevada relevância da produção de cerveja, sendo o ingrediente que se encontra em maior quantidade no produto final (aproximadamente 90 %), assim é crucial que as suas características e qualidade estejam concordantes com a obtenção de uma cerveja com qualidade. A água além de ser própria para consumo, deve possuir uma quantidade de sais minerais adequada à produção de cerveja, uma vez que estes sais influenciam os processos enzimáticos e químicos que decorrem aquando a fermentação, contribuindo para a caracterização do produto final. Desta forma, a água deve ser analisada (pH, cor, turbidez, dureza, entre outras) para perceber se serão necessárias correções químicas, e indicar o tratamento mais adequado. Quanto mais simples o tipo de tratamento

aplicado à água melhor, isto porque menor será o custo atribuído ao produto final. Posto isto, a água é de tal forma importante, que é uma característica de elevada influência aquando a escolha do sítio apropriado para a instalação da fábrica de cerveja, pois é fundamental ter uma fonte de água abundante e de boa qualidade de forma a reduzir custos de tratamentos adicionais (Taylor, 2006).

### 2.1.2 Malte

O malte resulta da germinação sob condições controladas, seguida por uma dessecação do grão de um cereal, como a cevada, aveia, milho ou trigo. Na fabricação de cerveja, o principal cereal utilizado para obter o malte é a cevada, uma vez que é rica em amido e enzimas (presentes no grão ou formadas durante a germinação) capazes de transformar os açúcares, por possuir ainda substâncias azotadas que têm um papel importante na formação da espuma, e também, por a sua casca servir como meio de filtração durante a clarificação do mosto. Existem diferentes tipos de malte, os quais atribuem diferentes características à cerveja, que são obtidos consoante as condições operatórias aplicadas ao processo de maltagem (Palmer, 2006; Unicer, 2015b; Venturini, 2005).

### 2.1.3 Cereais não maltados

Os cereais não maltados mais utilizados são o milho, trigo, arroz ou mesmo a cevada. Um cereal frequentemente utilizado é o milho, o qual após a remoção da gordura passa por etapa de moagem, sendo depois designado de *gritz*. Estes cereais são empregues com o intuito de reduzir o conteúdo proteico do mosto, alcançando-se uma cerveja mais leve, com uma cor menos intensa e com características específicas tendo em conta o cereal optado. Os cereais não maltados são também utilizados, com o propósito de reduzir os custos de fabricação (Stewart, 2006; Unicer, 2015b; Venturini, 2005).

### 2.1.4 Lúpulo

O lúpulo é uma planta aromática (*Humulus lupulus L.*) cujas flores fêmeas produzidas, que contêm grânulos de lupulina, são ricas em resinas de amargor, principalmente humulonas, e óleos essenciais. Apenas a flor feminina do lúpulo é utilizada para produzir cerveja, pois apenas esta possui as resinas amargas que, em conjunto com os óleos essenciais, conferem à cerveja o seu aroma e sabor amargo característicos. As substâncias amargas do lúpulo, além de conferirem um sabor amargo, contribuem para a estabilidade da espuma e aumentam o equilíbrio biológico da cerveja, isto porque as suas

características anti-sépticas previnem o desenvolvimento de contaminações biológicas (Roberts & Wilson, 2006; Unicer, 2015b; Venturini, 2005).

## 2.2 Levedura

Na indústria cervejeira, as leveduras mais utilizadas são do género *Saccharomyces*. De acordo com o tipo de produto final requerido, cerveja *ale* derivada do processo de alta fermentação ou cerveja *lager* do processo de baixa fermentação, são geralmente utilizadas as espécies *S. cerevisiae* e *S. pastorianus/carlbergensis*, respetivamente (Dragone & Almeida e Silva, 2010; Russel, 2006).

A levedura é responsável pela fermentação da cerveja, na qual converte os açúcares presentes em etanol e dióxido de carbono (produtos principais da fermentação alcoólica). No entanto, são vários os compostos que são produzidos durante este processo, porém em menores proporções, tendo estes um papel importante no sabor da cerveja. O tipo de levedura selecionada para realizar a fermentação confere características particulares ao produto final, influencia o aroma e sabor da cerveja, podendo assim exibir aromas florais, frutados ou minerais (Russel, 2006; Venturini, 2005).

Durante a fermentação a levedura flocula, as células agrupam-se formando agregados, os quais após o término do processo fermentativo sedimentam rapidamente (*lager*), ou flutuam (*ale*). Assim, de acordo com a estirpe de levedura utilizada, de baixa ou de alta fermentação, existem distinções nos processos, como por exemplo na recolha da levedura após o processo de fermentação estar terminado. Uma estirpe *ale* é recolhida no topo do fermentador, pois as células são conduzidas pelas bolhas de CO<sub>2</sub> até à superfície onde são removidas, por sua vez a estirpe *lager* sedimenta no fundo do fermentador, onde posteriormente é recolhida (Russel, 2006; Venturini, 2005).

## 2.3 Tipos de fermentação de cerveja

As cervejas podem ser agrupadas em dois grandes grupos, cervejas *ale* quando produzidas por fermentação alta, ou cervejas *lager* quando produzidas por fermentação baixa. Estes dois tipos de cerveja, são distinguidos tendo em conta a levedura utilizada para fermentação e certas particularidades do processo de produção.

### 2.3.1 Cerveja de alta fermentação (*ale*)

As cervejas fermentadas por leveduras de alta fermentação, são denominadas *ale*. Num processo de

alta fermentação as leveduras fermentam rapidamente, entre 2 a 7 dias, e a altas temperaturas, entre 15 °C a 24 °C. Uma fermentação conduzida a uma temperatura elevada com a estirpe *S. cerevisiae*, leva à produção de uma cerveja com um perfil de sabor mais complexo e frutado. Particularmente, as cervejas *ale* são mais densas, com paladar acentuado, coloração variada, e contém um teor alcoólico que varia entre 3 % v/v a 10 % v/v. Entre as cervejas *ale* distinguem-se as “Stout”, cervejas com coloração intensa e com uma determinada doçura no paladar, ou as “Porter”, cervejas com coloração muito forte, quase preta, pouco alcoólicas e muito amargas (Jones, 2011; Papazian, 2006; Unicer, 2015c).

### 2.3.2 Cerveja de baixa fermentação (*lager*)

As cervejas fermentadas por leveduras de baixa fermentação são denominadas *lager*, e são o tipo de cerveja mais comum no mundo. Num processo de baixa fermentação as leveduras fermentam mais lentamente, entre 5 a 10 dias, e a uma gama de temperatura baixa, entre 7 °C e 13 °C. Neste tipo de fermentação, inicialmente observa-se uma formação considerável de espuma, levando por fim à floculação da levedura, acabando por ser posteriormente removida do fundo do fermentador após sedimentar. Uma fermentação conduzida a uma reduzida temperatura com a estirpe *S. pastorianus*, leva à produção de uma cerveja com um perfil de sabor mais limpo e mais impulsionado diretamente pelos ingredientes. Particularmente, as cervejas *lager* são leves, transparentes, com coloração dourada, com uma boa espuma, e apresentam um teor alcoólico entre 4 % v/v e 5 % v/v. Entre as cervejas *lager* distinguem-se as “Pilsener”, cervejas com coloração bastante clara, secas, com pouco teor alcoólico e muito lupuladas, o que leva a um carácter amargo muito fino e bem pronunciado. Outras cervejas *lager* são as “Dortmunder” e as “Bock” (Jones, 2011; Papazian, 2006; Unicer, 2015c).

## 2.4 Classificação dos tipos de cerveja

A cerveja pode ser influenciada por diversos fatores, que acabam por lhe conferir características únicas, razão pela qual este produto pode ser classificado em categorias distintas. Segundo a Portaria n.º 1/93 de 3 de Janeiro, os diferentes tipos de cerveja admitidos são os seguintes:

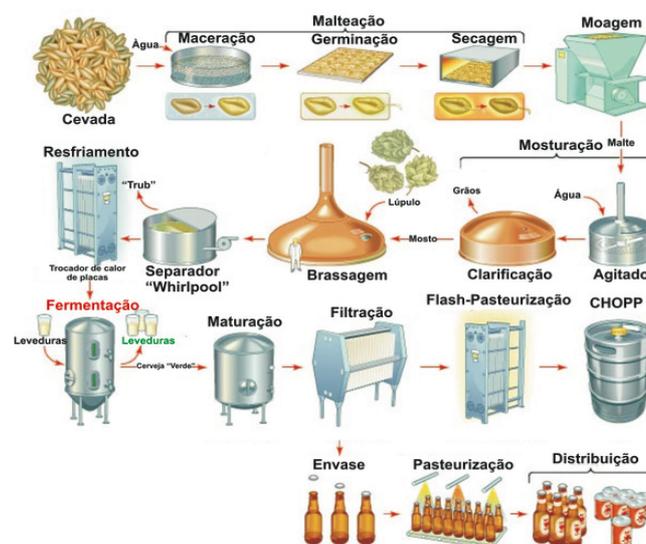
- “Cerveja sem álcool”: produto cujo teor alcoólico seja igual ou inferior a 0,5 % v/v;
- “Cerveja com baixo teor alcoólico”: produto cujo teor alcoólico seja superior a 0,5 % v/v mas inferior ou igual a 1,2 % v/v;

- “Cerveja” ou “Cerveja corrente”: produto cujo teor alcoólico seja superior a 1,2 % v/v, e que apresente um extrato primitivo não superior a 13 °Plato;
- “Cerveja especial”: produto cujo teor alcoólico seja superior a 1,2 % v/v, e que apresente um extrato primitivo superior a 13 °Plato e igual ou inferior a 15 °Plato;
- “Cerveja extra”: produto cujo teor alcoólico seja superior a 1,2 % v/v, e que apresente um extrato primitivo superior a 15 °Plato;
- “Cerveja de fermentação láctica”: produto que sofreu uma fermentação láctica no decurso do seu processo de produção;
- “Cerveja refermentada em garrafa”: produto que sofreu uma refermentação na garrafa, por adição de levedura apropriada e acondicionamento adequado.

No entanto, a cerveja pode ainda ser classificada quanto à sua coloração (clara ou escura), quanto à quantidade de malte de cevada (se é puro malte ou mesmo se a sua quantidade é reduzida, sendo assim a cerveja nomeada pelo cereal que a caracteriza), ou mesmo quanto ao tipo de fermentação (alta ou baixa), sendo esta a mais comum.

## 2.5 Processo de produção

No decorrer do processo de produção de cerveja, são inúmeras as reações que vão ocorrendo nas várias etapas de processamento, com uma maior ou menor relevância, porém todas contribuem para as características do produto final. A Figura 2 ilustra as diferentes etapas de produção até à obtenção do produto final.



**Figura 2.** Etapas do processo de produção de cerveja (reproduzido de Encyclopaedia Britannica, n.d.).

### 2.5.1 Maltagem

Na etapa da maltagem o cereal (ex.: cevada) é convertido a malte, sendo constituída por três fases principais, a molha, a germinação e a secagem. Primeiramente na molha, o grão do cereal é colocado em contacto com água num período de tempo que varia entre 2 a 5 dias, e tem como objetivo principal aumentar a humidade do grão (de 12 % para 42 %), criando assim condições mais propícias para a germinação do grão. De seguida, após a absorver a água o grão vai germinar, fase na qual ocorre a produção de enzimas necessárias para a hidrólise parcial dos componentes da cevada (proteínas, amido e paredes celulares), os quais originam os nutrientes requeridos pela levedura. Após a modificação fisiológica do grão ser atingida, ou seja, quando o caulículo atinge um comprimento de cerca de 75 % do tamanho do grão, a germinação é bloqueada por secagem. Esta fase é realizada recorrendo a uma corrente de ar quente, a qual aquece o malte a 70 °C por alguns minutos, reduzindo a humidade do grão para uma gama entre 2 % a 5 %. Este processo deve ser controlado, de modo a que a temperatura não destrua as enzimas do malte (Palmer, 2006; Venturini, 2005).

### 2.5.2 Moagem

Nesta etapa o malte é moído, podendo ser um processo de moagem seca, o qual é realizado em moinhos de rolos, discos ou martelos, ou então um processo de moagem húmida, realizado em moinhos de rolos. Na moagem do malte a sua casca é rompida expondo a parte interna do grão (endosperma), seguindo-se a total desintegração do endosperma, facilitando a atividade enzimática sobre os componentes insolúveis do malte (Palmer, 2006; Venturini, 2005).

É importante que o malte gerado não sofra uma moagem demasiado severa, a qual produz um malte muito fino, pois as cascas do mesmo irão funcionar como um agente filtrante do mosto na etapa posterior, prevenindo assim que a fase de filtragem não seja afetada. Por outro lado, a moagem não deverá ser demasiado grosseira, de forma a facilitar a hidrólise do amido através do aumento da superfície de contacto do substrato amiláceo (Palmer, 2006; Venturini, 2005).

Os cereais não maltados sofrem também uma etapa de moagem num grau adequado, produzindo uma farinha que irá ser misturada com a farinha obtida da moagem do malte (Unicer, 2015b).

### 2.5.3 Brassagem

Esta etapa é essencialmente um processo enzimático, na qual através de condições operatórias adequadas é promovido por ação das enzimas do malte, o desdobramento de moléculas de amido e

proteínas noutras mais simples (hidrólise do amido, proteínas e estruturas celulares). A brassagem envolve a mistura da farinha derivada dos cereais (malte e cereais não maltados) com água, a uma temperatura e volume definidos. Este processo é conduzido durante um período de tempo a várias temperaturas, de forma a ativar as enzimas responsáveis pela acidificação do mosto e redução da quantidade de proteínas e carboidratos. As condições operatórias deste procedimento são controladas, sendo as variáveis como a temperatura ou o pH definidas tendo em conta as características finais que se pretende obter no mosto. A brassagem tem uma duração entre 2 h a 4 h, terminando a uma temperatura de aproximadamente 75 °C. A principal ocorrência nesta etapa é a conversão do amido em açúcares fermentáveis, tendo como principais responsáveis as  $\alpha$ -amilases, as  $\beta$ -amilases e as protéases (Leiper & Miedl, 2006; Magalhães et al., 2009; Unicer, 2015b).

#### 2.5.4 Filtração do mosto

Após a brassagem, é necessário separar o extrato líquido (mosto) da porção insolúvel (denominado dreche - pode ser utilizado como alimento para o gado bovino). A filtração é realizada num filtro prensa ou numa cuba filtro com recurso a uma corrente de água, que se encontra à mesma temperatura que o mosto (para otimizar o rendimento do processo), a qual irá possibilitar a extração de praticamente todo o conteúdo solúvel. O tipo de filtro utilizado irá influenciar o brilho do mosto, devido à presença de uma quantidade maior ou menor de ácidos gordos, os quais tem elevada relevância como moduladores do perfil aromático da cerveja. O processo de filtração do mosto tem uma duração entre 2 h a 3 h, e é conduzido a uma temperatura entre 75 °C e 80 °C (Leiper & Miedl, 2006; Magalhães et al., 2009; Unicer, 2015b).

#### 2.5.5 Ebulição do mosto

O mosto diluído e filtrado é direcionado para a caldeira de ebulição, na qual durante um período de tempo de aproximadamente 2 h ocorre uma série de reações que tem como objetivo principal a estabilização do mosto e extração de compostos desejáveis do lúpulo. Nesta etapa dá-se a concentração do mosto por evaporação do excesso de água, a sua esterilização, e as proteínas de elevado peso molecular são precipitadas, originando um grande coágulo e um mosto mais brilhante. É nesta etapa que se dá a adição do lúpulo, o qual irá amargarar o mosto por conversão dos seus ácidos  $\alpha$  em ácidos iso- $\alpha$  ou isohumulonas. Os óleos essenciais presentes no lúpulo contribuem para a aromatização do mosto, apesar da maior parte destes compostos serem eliminados, aqueles que ficam

retidos no mosto são solubilizados contribuindo assim para o aroma da cerveja. De acordo os tipos de malte utilizados, o mosto adquire uma certa coloração (caramelização dos açúcares, através de reações de *Maillard*). Nesta fase, ocorre ainda a destruição das enzimas ainda existentes, assim como a eliminação dos compostos voláteis (Leiper & Miedl, 2006; Magalhães et al., 2009; Unicer, 2015b).

#### 2.5.6 Clarificação (decantador)

Terminada a ebulição do mosto, este precisa de uma fase de clarificação, na qual ocorre a separação dos resíduos não solubilizados do lúpulo e das proteínas coaguladas (denominadas *trub*) do mosto quente. Este processo pode ser realizado num decantador por ação da gravidade, ou então num *whirlpool* por ação da força centrífuga (Magalhães et al., 2009; Unicer, 2015b).

#### 2.5.7 Arrefecimento e arejamento do mosto

O mosto clarificado encontra-se a elevada temperatura, necessitando assim de ser arrefecido e arejado em condições estéreis, de forma a satisfazer as condições adequadas para a inoculação da levedura, e assim dar início à fermentação. O arrefecimento é realizado num permutador de placas, no qual o líquido refrigerante é água gelada, e a sua função consiste em diminuir a temperatura do mosto até uma gama entre 9 °C e 10 °C. Relativamente ao arejamento, este é realizado com ar estéril ou oxigénio, sendo que a porção máxima de oxigénio usado é de 9 mg de O<sub>2</sub> por litro de mosto. O arejamento do mosto é importante para a levedura no início da fermentação, pois esta requer oxigénio no processo de respiração celular e na síntese de ácidos gordos insaturados e esteróis, fundamentais para o crescimento celular (Leiper & Miedl, 2006; Magalhães et al., 2009; Unicer, 2015b).

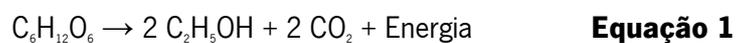
#### 2.5.8 Propagação e Armazenamento da Levedura

Uma etapa prévia à fermentação é a preparação da levedura que irá ser adicionada ao mosto para converter os açúcares em etanol e CO<sub>2</sub>. A levedura nova após ser recebida, necessita de ser propagada, para tal é inicialmente propagada em propagadores no laboratório (de aproximadamente 15 L), sendo depois reencaminhada para tanques de propagação onde irá ocorrer a multiplicação das células de levedura até ao nível desejado. A propagação tem o objetivo de preparar a levedura, de forma a que a fermentação corra dentro da normalidade, produzindo assim uma cerveja de boa qualidade. A propagação a nível industrial, nos tanques de propagação, pode ser realizada de duas formas, em tanques fechados ou propagação aberta (as condições estéreis nem sempre são

garantidas). Os procedimentos em tanques fechados incluem instalações de propagação de levedura (recipientes fechados de tamanhos diferentes nos quais a levedura é propagada até ser suficiente para inocular um tanque), o procedimento de assimilação (o mosto é fermentado com levedura sobre condições de crescimento) e o procedimento num único reservatório com cultura de levedura pura (cultura pura é introduzida em condições estéreis e multiplicada até ser suficiente para um tanque). Após esta fermentação inicial terminar, a levedura é reenviada para tanques onde é armazenada até ser novamente utilizada em novos processos fermentativos. Após o fim de vida da levedura, esta passa por um processo de filtração, no qual é retirada a cerveja que está presente. Seguidamente, a levedura é vendida como alimento para animais e a cerveja poderá ser introduzida no processo (cerca de 1 %) (Kunze, 2004a).

### 2.5.9 Fermentação

A fermentação é uma etapa crucial para a qualidade da cerveja a ser produzida, sendo por definição, o processo no qual os açúcares do mosto são convertidos, por ação de leveduras, em álcool, dióxido de carbono e outros produtos secundários (a equação 1 é a reação química que representa a fermentação alcoólica) (Unicer, 2015b).



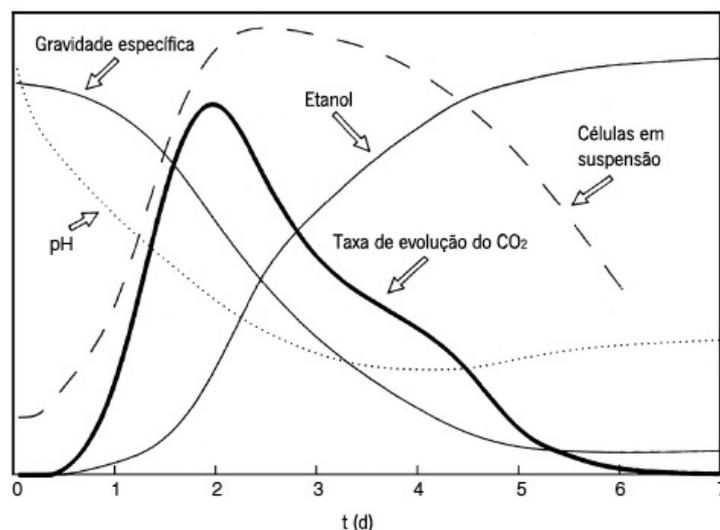
Durante o processo fermentativo além dos produtos principais, etanol e dióxido de carbono, são também formados subprodutos que resultam do metabolismo das leveduras, como ácidos, ésteres, ligações de enxofre, álcoois alifáticos superiores, entre outros. Estes subprodutos têm um efeito considerável no sabor, aroma e outras propriedades características da cerveja, sendo uns desejáveis e outros indesejáveis. A formação dos subprodutos e a sua concentração varia consoante os inúmeros fatores ligados ao processo, como a composição e concentração do mosto ou o período e a temperatura do processo fermentativo (Magalhães et al., 2009; Munroe, 2006b).

A fermentação depende da concentração do mosto, da levedura e das condições de fermentação. É importante produzir um mosto com qualidade, uma vez que a sua concentração influencia a fermentação pela presença e concentração de vários nutrientes, pH, grau de arejamento e temperatura. Estas variáveis podem afetar a taxa de fermentação, a extensão da fermentação, a quantidade de levedura produzida, e a qualidade da cerveja produzida. Dependendo da temperatura durante a fermentação e a natureza da levedura no fim do período fermentativo, as cervejas são

distinguidas como de alta ou de baixa fermentação, como já foi referido anteriormente (Magalhães et al., 2009; Munroe, 2006b).

Num processo cervejeiro, a fermentação alcoólica tem início quando ocorre a inoculação da levedura no mosto tratado. A quantidade de levedura a adicionar, depende das características do mosto e do tipo de fermentação que se pretende realizar. O processo fermentativo, na maioria dos casos, ocorre em tanques de aço inox fechados, de forma a evitar contaminações ou perdas de  $\text{CO}_2$ . As condições operatórias da fermentação devem ser bem controladas e variam consoante o tipo de cerveja que se pretende obter, fermentação alta para o do tipo de cerveja *ale*, ou fermentação baixa para o tipo de cerveja *lager*, ambas abordadas anteriormente. O oxigénio que o mosto recebeu, apenas é benéfico na fase inicial da fermentação pois contribui para a produção de compostos que são necessários para o crescimento celular, no entanto a sua presença em qualquer etapa do processo fermentativo pode originar instabilidade no produto final. A fermentação é essencialmente anaeróbica, como já referido apenas no momento da inoculação deve estar presente uma certa porção de oxigénio (Magalhães et al., 2009; Munroe, 2006b).

De uma forma geral, a fermentação inicialmente é tumultuosa, tornando-se progressivamente mais lenta, até que a levedura flocule, sedimentando no fundo do tanque. No gráfico da Figura 3 é possível observar o comportamento de parâmetros como o pH, o etanol, o  $\text{CO}_2$  e as células de levedura ao longo da fermentação alcoólica.



**Figura 3.** Perfil de fermentação e respetivas alterações ocorridas ao longo do tempo (reproduzido de Munroe, 2006b).

Numa primeira fase ocorre a adaptação das leveduras ao meio, seguindo-se a multiplicação das leveduras e, conseqüente, consumo de açúcares e produção de etanol ainda com reduzida

intensidade. Segue-se a fase principal, a fase tumultuosa na qual as leveduras já se adaptaram ao meio, sendo esta caracterizada pela intensa produção de etanol e de dióxido de carbono, vigorosa formação de espumas e elevação da acidez do mosto. Esta fase termina quando se observa a diminuição da turbulência, em consequência da diminuição da libertação de dióxido de carbono, devido à redução da atividade da levedura, provocada pela falta de nutrientes ou pelos efeitos tóxicos do etanol e de outros metabolitos produzidos durante a fermentação (Magalhães et al., 2009; Munroe, 2006b; Young & Lewis, 2002).

#### 2.5.10 Maturação e Estabilização

Terminada a fermentação, o produto resultante é designado cerveja “verde”, na qual existe ainda uma pequena quantidade de leveduras em suspensão e uma determinada porção de extrato fermentável residual. A maturação tem por finalidade a refinação do sabor da cerveja, consistindo assim num repouso alongado da bebida, no qual ocorre fermentação secundária, carbonatação do produto, clarificação e amadurecimento de componentes de sabor e aroma (Magalhães et al., 2009; Munroe, 2006a).

Na fermentação secundária processada na maturação, a levedura restante vai converter o extrato fermentável ainda presente na cerveja, libertando compostos voláteis indesejáveis, removendo o oxigénio residual e reduzindo quimicamente vários compostos, melhorando assim o sabor e aroma. Após o término desta fermentação, ocorre a sedimentação da levedura e precipitação de substâncias, contribuindo assim para a clarificação da cerveja. Esta fase é particularmente importante, porque por exemplo, caso as proteínas se mantivessem no estado solúvel poderiam passar no filtro e viriam a turvar a cerveja mais tarde. Durante a maturação são formados mais ésteres e álcoois superiores, ocorre a redução do teor de compostos indesejáveis e verifica-se a atenuação do amargor, construindo assim o sabor final da cerveja (Magalhães et al., 2009; Munroe, 2006a).

O período de maturação varia consoante o tipo de cerveja, no caso da cerveja *ale* o tempo de maturação é menor, cerca de 1 a 2 semanas, e a gama de temperaturas é maior, entre 12 °C a 20 °C. Uma cerveja *lager* tem um período de maturação que pode durar um mês ou mais, a uma gama de temperaturas à volta de 4 °C (Broderick, 1978).

De seguida, segue-se a etapa da estabilização na qual a cerveja é deixada em repouso a uma gama de temperatura entre 0 °C e 2 °C, favorecendo a eliminação de matéria proteica e assim, contribuindo para atingir a sua estabilidade coloidal (Unicer, 2015b).

### 2.5.11 Filtração da cerveja

A filtração tem como objetivo principal a eliminação dos restantes componentes de turvação, como levedura residual e complexos proteicos, que persistiram após o processo de maturação. Esta etapa é essencial para garantir ao produto um aspeto visual com qualidade, pois garante à cerveja uma melhor estabilidade microbiológica, coloidal e organolética, deixando-a transparente e brilhante. A filtração consiste em fazer passar a bebida resultante do processo anterior, por um meio filtrante apropriado (ex.: filtros de terra diatomáceas ou de perlite). Na indústria, a filtração consiste na passagem da cerveja por um circuito de equipamentos filtrantes, como por exemplo, por uma centrífuga, uma cuba filtro com Kieselguhr (KG), e outra com poli-vinil-poli-pirrolidona (PVPP). Após este processo, a cerveja é armazenada em tanques e segue para a fase de carbonatação (Magalhães et al., 2009; Munroe, 2006a; Unicer, 2015b).

### 2.5.12 Diluição da cerveja e adição do CO<sub>2</sub>

Por vezes, a cerveja termina a fase de filtração ainda com um carácter mais forte do que se pretende, por exemplo com um extrato primitivo mais alto. Desta forma é necessário realizar uma diluição, a qual tem lugar logo após a filtração. Posteriormente, à cerveja filtrada é necessário realizar um ajuste no valor de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), composto comumente presente na concentração de aproximadamente 5 g/L, porém varia consoante o tipo de cerveja. A carbonatação é importante para os parâmetros da qualidade da cerveja, pois o CO<sub>2</sub> contribui para o aumento da consistência e estabilização da espuma e desempenha ainda, um papel essencial no prolongamento do prazo de validade da cerveja. Após a fermentação o nível de CO<sub>2</sub> que provém da carbonatação natural, encontra-se abaixo da gama de valores desejados no produto final, sendo assim necessário que a cerveja receba a quantidade de CO<sub>2</sub> em falta. A cerveja filtrada recebe injeção de CO<sub>2</sub> (recuperado da fermentação na própria instalação e após passar por processo de purificação e remoção da humidade, ou então adquirido comercialmente), seguindo-se um certo período de repouso de forma a facilitar a melhor dissolução do CO<sub>2</sub> adicionado. Devido às perdas durante o acondicionamento da cerveja nos recipientes, a maioria das cervejas recebem um excesso de carbonatação de aproximadamente 10 % (Munroe, 2006a; Young & Lewis, 2002).

### 2.5.13 Enchimento

Assim que a qualidade final da cerveja é alcançada, a cerveja está pronta para ser acondicionada em recipientes distintos de acordo com o requisito comercial, podendo ser em garrafa (mais utilizado), lata

ou barril. A etapa de enchimento é de elevada relevância para a qualidade da cerveja, sendo de particular importância realizar um cuidadoso controlo sobre o oxigénio no ato de enchimento (Magalhães et al., 2009; Unicer, 2015b).

Por exemplo no caso do enchimento de garrafas, numa etapa inicial as garrafas de tara perdida (TP) que vem de paletes devidamente seladas do fornecedor (não devem estar danificadas), são introduzidas diretamente na linha, passando apenas por um jato de ar que vai limpar as poeiras que tiver. Por outro lado, as garrafas de tara retornável (TR), as quais devem ser mais resistentes, necessitam de uma etapa de higienização minuciosa, sendo inicialmente submetidas a um inspetor que irá controlar se elas vem em condições satisfatórias (se estão danificadas), passando de seguida por um equipamento de limpeza rigoroso (o agente de limpeza normalmente é a soda cáustica e as temperaturas podem chegar aos 85 °C), seguindo para um inspetor de vazio que verifica se as mesmas estão em condições de prosseguir (se estão bem limpas ou danificadas), sendo por fim direcionadas para o enchimento da cerveja (Kunze, 2004b).

De seguida, realiza-se o enchimento no qual a cerveja proveniente dos tanques de cerveja filtrada (TCFs) é introduzida nos recipientes desejados. Este procedimento deve ser conduzido de tal modo, que a qualidade do produto e as suas características se mantenham completamente intactas. No caso das garrafas, na linha primeiramente é introduzido CO<sub>2</sub> na garrafa, seguindo-se a cerveja, passando depois por um fino jato de água (irá fazer a cerveja espumar o que impedirá a entrada de oxigénio, de forma equilibrada para não perder muito produto), dá-se a colocação da cápsula e por fim, as garrafas são lavadas por fora com jatos de água. Posteriormente, a garrafa irá ser submetida a um inspetor de nível, o qual controlará se o nível atingido pela cerveja na garrafa está dentro da gama satisfatória (Kunze, 2004b).

#### 2.5.14 Pasteurização

Outro procedimento necessário para garantir a qualidade do produto final é a estabilização biológica da cerveja, a qual de acordo com o tipo de enchimento, deve ser realizada antes ou depois do mesmo. Este procedimento pode ser realizado de duas formas, a frio fazendo uma filtração esterilizante, ou a quente recorrendo à pasteurização. A pasteurização consiste na exposição da cerveja a temperaturas específicas durante um determinado período de tempo, e pode ser realizada de duas formas, antes ou depois do enchimento. No caso de a pasteurização ser realizada antes do enchimento da bebida na sua embalagem, denomina-se pasteurização-flash, na qual o produto é submetido a uma temperatura

de 75 °C durante um curto período de tempo (30 s). A pasteurização-flash é um tratamento contínuo que se processa geralmente num permutador de placas, o qual normalmente utiliza água glicolada para arrefecer a cerveja no fim do processo. Quando a pasteurização é realizada após o acondicionamento da bebida na garrafa, esta designa-se pasteurização-túnel, e é efetuada unidade a unidade, evitando problemas de instabilidade biológica. A pasteurização-túnel tem uma duração superior à pasteurização-flash, sendo que os recipientes são colocados no tapete percorrendo-o durante uma hora recebendo jatos de água, os quais tem a função de elevar a temperatura até 60 °C durante 20 min, seguindo-se o arrefecimento até à temperatura ambiente (Dunn, 2006; Magalhães et al., 2009).

#### 2.5.15 Rotulagem e embalagem

A identificação dos recipientes que contém o produto é importante; o rótulo não deve ser subestimado pois os consumidores compram com os “olhos” e por este motivo quanto mais atrativa a sua apresentação, mais atenção vai recair sobre o produto. Na rotulagem os recipientes são marcados com rótulos que contém um código, o qual indica o local, a linha, o dia e a hora a que este procedimento ocorreu. Os rótulos podem ser colocados na parte frontal da garrafa, na parte traseira, ou mesmo no seu pescoço. Em seguida, uma vez que as garrafas estão identificadas é necessário enviá-las para a respetiva embalagem. No caso das garrafas, estas são disponibilizadas de forma diferente, podendo ser em grades (TR) ou em caixas cartão (TP), as quais por sua vez irão ser organizadas em paletes, seguindo-se a colocação de uma película de plástico e um rótulo na paleta finalizada (Kunze, 2004b).

## 2.6 Fermentação em garrafa

A fermentação em garrafa envolve um processo de fermentação adicional, o qual se processa no interior da garrafa através da adição de material fermentável, geralmente açúcares e levedura, normalmente no momento que antecede o enchimento. A apreciação das cervejas produzidas por este método deve-se à evolução das suas características organolépticas e ao seu aspeto visual, provocado pelo sedimento de levedura na garrafa. A levedura adicionada na refermentação tem um papel importante, pois oferecem ainda uma proteção natural contra o oxigénio, reduzindo a sensibilidade da cerveja à oxidação. Uma grande parte deste tipo de cervejas apresenta um tempo de prateleira longo, podendo observar-se também um conteúdo alcoólico elevado, tal como se pode observar pela Tabela 1 (Oliver, 2011a; Saison et al., 2010).

**Tabela 1.** Tempo de prateleira (em meses) e teor alcoólico (em % v/v) de algumas das marcas de cervejas refermentadas na garrafa (Beverage, n.d.; Dibeivit, n.d.; Duvel, n.d.)

<b>Cerveja fermentada em garrafa</b>	<b>Tempo de prateleira (meses)</b>	<b>Teor Alcoólico (% v/v)</b>
Malheur 12	24	12
Deus	24	11,5
Duvel	36	8,5
Westmalle Dubbel Trappist	24	7
Chimay Rouge Trappist	48	7
Chimay Blue Trappist	60	9
Erdinger Pikantus	12	7,3
Erdinger Weissbier	12	5,3
Barbär Blond	24	8
Rocheport 10	60	11,3

Assim, de uma forma geral, este tipo de refermentação confere efervescência, resistência contra infecções e oxidação, aumentando conseqüentemente o tempo de prateleira, e ainda, melhora a estabilidade e o perfil de sabor da cerveja. O processo de refermentação em garrafa dá origem a cervejas com uma estabilidade de sabor prolongada, quando comparadas com certas cervejas produzidas sem refermentação (Oliver, 2011a; Saison et al., 2010).

Atualmente, este mercado é amplamente explorado, principalmente na Alemanha e Bélgica. Por esta razão já são muitos os tipos de cerveja fermentados na garrafa que existem no mercado. O mercado premeia-nos com uma enorme diversidade, desde cervejas brancas, passando por ruivas e até às pretas, ou mesmo desde garrafas pequenas até às garrafas de maior volume (ex.: 75 cL). O tipo de refermentação também varia, o que certamente influencia o produto final obtido e as suas características.

### 2.6.1 Processo de fermentação

Geralmente, quando se pretende a refermentação em garrafa, após o processo fermentativo terminar a cerveja é filtrada, seguindo-se a adição dos açúcares e nova levedura. Posteriormente, procede-se à transferência da cerveja para a garrafa, a uma temperatura na gama de 15,5 °C a 21 °C, a qual é selada e armazenada por um período de tempo entre 2 a 3 semanas, a uma temperatura entre 20 °C e 25 °C. Aquando a finalização do processo de fermentação, a maioria dos fabricantes de cerveja direciona a cerveja refermentada para um armazenamento frio por um curto período de tempo. No

entanto, existem certas particularidades nos processos de fermentação em garrafa que os diferenciam (Oliver, 2011a).

Um dos processos de refermentação denomina-se “*priming*”, e tem por base a adição de um componente fermentável (açúcar, mel, mosto, e outros) à cerveja antes de engarrafar, de forma a ser convertido em CO<sub>2</sub>. Quando é adicionado mosto não fermentado, o método é denominado *speise*, e este pode ser fresco ou outro que sobrou de outro processo e foi guardado no congelador num recipiente esterilizado (para garantir a higienização deve ser fervido 10 min ou 15 min antes de adicionar). Os açúcares presentes no mosto e a levedura *speise* adicionada, constituem o material necessário para realizar a refermentação (Boulton, 2013; Oliver, 2011a).

Outro método muito conhecido é o método *Champenoise*, onde a cerveja é por vezes enviada para Epernay, na região de Champagne em França, e recebe leveduras e açúcares ao ser engarrafada e é deixada por meses ou anos em adegas (exemplos: Deus, Malheur, Lust). Após este período de armazenamento, quando se verifica o fim da fermentação, a cerveja passa pelo processo de *remuage* e *dégorgement*. Este método será explicado com detalhe, na secção seguinte (Boulton, 2013; Oliver, 2011a).

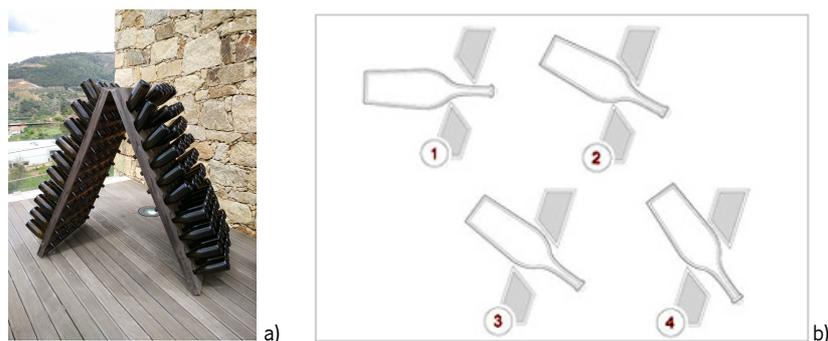
Divido ao aparecimento em elevada quantidade de cervejas filtradas, em vez de se verificar o abandono da refermentação em garrafa, observou-se a evolução de alguns aspetos desta técnica, proporcionando produtos parcialmente refermentados na garrafa. Nesta evolução, surgiu um método alternativo onde inicialmente a cerveja recebe carbonatação forçada (4,4 g/L a 5 g/L), seguida da adição de uma pequena quantidade de levedura e açúcar, sendo posteriormente submetida à refermentação na garrafa (algumas das mais famosas cervejas Trappist são feitas através deste método). Esta técnica moderna apresenta vantagens como curtos períodos de refermentação ou adição de menor quantidade de levedura (Oliver, 2011a).

### 2.6.2 Método *Champenoise*

Na produção de champanhe numa primeira etapa ocorre a produção do vinho base. Aqui o vinho utilizado é produzido normalmente, sendo utilizadas as castas *Chardonnay*, *Pinot Noir*, *Pinot Meunier* e *Pinot Gris*. O processo de produção de vinho difere no momento da maturação, pois na produção de champanhe após a primeira fermentação dá-se a fase de *assemblage*. Nesta etapa são combinados diferentes vinhos base num consistente *cuvée* (melhor sumo de uva resultante da prensagem de bagos de uva - são os primeiros 2 L de 4 kg). O seu objetivo é assegurar uma qualidade consistente,

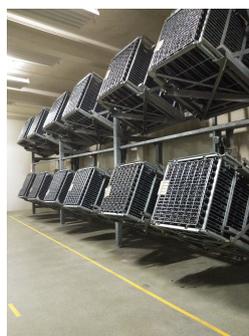
utilizando uma certa quantidade de vinho usado num processo anterior. Após o *assemblage*, o vinho é acondicionado na garrafa com uma quantidade de açúcar e levedura extra, estando assim pronto para a fase seguinte deste método, uma segunda fermentação no seu interior. Após a adição das matérias fermentáveis, a garrafa é então selada com um obturador (no qual irá ser posteriormente acumulada a levedura) e uma cápsula metálica e armazenada horizontalmente durante o período de refermentação e descanso, o qual pode durar desde um ano, até três ou mais anos. Quando este período termina o vinho tem borras, sendo assim necessário remover a levedura e o sedimento da garrafa. Para tal, as garrafas passam pelo processo de *remuage*, o qual pode ser tradicional ou mecânico (Bershad, n.d.; Zoecklein, 2002).

No processo tradicional, as garrafas são colocadas na horizontal em prateleiras próprias, denominadas “*pupitres*” (Figura 4). Durante 17 dias, as garrafas são rodadas diariamente um quarto de volta e ligeiramente inclinadas, desde a posição horizontal até à vertical, com o intuito de demover as borras da parede e fazê-las descer (Bershad, n.d.; Zoecklein, 2002).



**Figura 4.** “*Pupitres*” utilizados no método tradicional de *remuage* (a) e respetivas posições que a garrafa vai ocupando ao longo do tempo (b) (adaptado de Kimexco, n.d.).

Este processo de *remuage* pode ser também realizado de forma mecânica, através de um equipamento composto por “*riddling cages*” (Figura 5), o qual gira as garrafas em certos intervalos de tempo definidos.



**Figura 5.** “*Riddling cage*” utilizada no método mecânico de *remuage*.

Uma “*riddling cage*” é um recipiente grande que se assemelha a um cubo montado num giroscópio, pode receber cerca de 504 garrafas, dispostas inicialmente numa posição inclinada. Este contentor imita os movimentos realizados no *remuage* tradicional porém num período de tempo mais curto (7 dias), sendo assim as garrafas rodadas desde a posição horizontal até à posição vertical, permitindo que o sedimento da refermentação desça em direção ao pescoço da garrafa para uma remoção facilitada. Estas “*riddling cages*” foram projetadas por produtores espanhóis de Cava (vinho espumante espanhol) (Bershad, n.d.; Zoecklein, 2002).

Posteriormente, segue-se a fase do *dégorgement* na qual se dá a remoção da levedura. Inicialmente as garrafas são colocadas num banho com uma solução refrigerante que se encontra a - 20 °C durante 5 min, congelando assim o gargalo e as leveduras que estão acumuladas no obturador. Posteriormente, a porção congelada é removida, a qual sai sob pressão do CO<sub>2</sub>, seguindo-se a adição do licor de expedição. Esta adição serve para compensar a porção de vinho perdida, sendo assim substituída por licor ou vinho de dosagem (mistura de vinho e açúcar), no qual a quantidade de açúcar presente irá determinar as características do vinho espumante (de bruto a doce). Quanto mais novo for o vinho, maior dosagem é necessária para balançar a sua acidez. Por fim, a garrafa é tapada com a rolha de cortiça e o arame típico, é lavada e rotulada (Bershad, n.d.; Zoecklein, 2002).

Cada vez mais este processo é aplicado nas cervejas, uma vez que origina produtos muito diferenciadores. Como referido anteriormente, neste método a cerveja é por vezes enviada para França, onde recebe leveduras e açúcares e é deixada por meses ou anos em adegas, seguindo-se posteriormente o *remuage* e o *dégorgement*. Um exemplo deste método de produção bastante conhecido, e já referido anteriormente, é a cerveja *Deus Brut des Flandres*. Na sua primeira fermentação é utilizado malte de cevada, sendo que após esta terminar ocorre uma segunda fermentação em tanque, e por fim, ela é enviada para a região de Champagne. É nesta região que a cerveja passa pelo método *champanoise* (terceira fermentação e maturação prolongada durante longos meses, *remuage* e *dégorgement*). Esta cerveja é descrita como “*uma magnífica simbiose entre o melhor de dois mundos: a produção de cerveja e a criação de vinho espumante*” (Beer Tourism, n.d.).

### 2.6.3 Açúcar

No processo de fermentação em garrafa, a quantidade de açúcar a adicionar depende de três fatores: o nível de carbonatação desejado no produto final, o conteúdo de CO<sub>2</sub> no momento do enchimento da garrafa, e a quantidade de açúcar fermentável ainda presente na cerveja base. Geralmente, o açúcar a

adicionar deverá estar entre 8 g/L e 12 g/L, sendo este usualmente glucose, dextrose ou sacarose. A quantidade de açúcar necessária para a fermentação é determinada através da realização de um teste de rápida fermentação, no qual uma grande quantidade de levedura é adicionada a um frasco que contém cerveja quente, e preferencialmente agitando a solução durante 24 h a 48 h, possibilitando assim, observar o quanto a cerveja fermentou. Esta gravidade final deve ser considerada nos cálculos da refermentação, uma vez que é provável que cerveja atinja este valor durante o processo de refermentação (Oliver, 2011a).

#### 2.6.4 Dióxido de Carbono

A cerveja base que provém do processo fermentativo primário, contém na sua composição uma determinada quantidade de CO<sub>2</sub>, a qual pode ser medida através de equipamentos sofisticados, ou de sensores de pressão apropriados. Segundo se verifica na literatura, pode assumir-se que uma cerveja cuja fermentação ocorreu a uma temperatura de 20 °C, contém 1,5 g/L de CO<sub>2</sub> após a fermentação. A carbonatação desejada após a fermentação em garrafa é uma função de três simples parâmetros: a quantidade de CO<sub>2</sub> que já se encontra na cerveja, a totalidade de açúcar fermentável que estará presente após adicionar o açúcar necessário para a refermentação, e quanto desse açúcar vai ser consumido pela levedura que realizará a refermentação. Geralmente, o nível de carbonatação desejável encontra-se entre 5 g/L e 8 g/L (Oliver, 2011a).

#### 2.6.5 Levedura

Na refermentação da cerveja, a levedura utilizada pode ser a que já está presente desde a fermentação inicial ou então adiciona-se uma nova levedura. No entanto, em termos de performance a nível comercial é aconselhada a adição de uma nova levedura, uma vez que a levedura original encontra-se em estado de exaustão, em ambiente de baixo pH, stressada pelo etanol presente na solução, e podendo ainda verificar-se um aumento desse stress ao ser colocada dentro da garrafa. Por conseguinte, esta levedura poderá ou não conseguir cumprir a sua função (Boulton, 2013; Oliver, 2011a).

Para uma fermentação em garrafa bem sucedida, a seleção da estirpe de levedura e a manipulação da mesma são fatores determinantes. Nomeadamente, as propriedades com especial relevância para a levedura que será utilizada são: tolerância a altos níveis de etanol, resistência a substâncias inibitórias que provém das reações de Maillard de maltes especiais, ausência de efeitos na espuma da cerveja

(algumas estirpes *S. cerevisiae* revelam atividade proteolítica sobre as proteínas da espuma), um caráter floculante apropriado e uma boa adesão da levedura à superfície de vidro (Boekhout & Robert, 2003).

A levedura adicionada para a realização da fermentação em garrafa, pode ser da mesma estirpe que fermentou a cerveja base, outra estirpe de levedura utilizada na indústria cervejeira, ou por vezes, é possível ainda optar por uma estirpe utilizada na produção de vinho (ex.: Estirpe *Pris de Mousse*, muitas vezes referenciada como a “levedura de Champagne”) (Oliver, 2011a).

A concentração de levedura necessária vai depender de uma vasta gama de parâmetros que incluem a expectativa de tempo de prateleira, a aparência desejável da cerveja e o tempo de refermentação desejado. Geralmente, a gama de adição está compreendida entre um mínimo de 200 000 células/mL e um máximo de 2 000 000 células/mL, sendo que o valor de 1 000 000 células/mL é considerado apropriado para a maioria dos tipos de cervejas. Hoje em dia, a maioria dos fabricantes de cerveja recorrem a levedura desidratada para promover a refermentação, a qual permite ao fabricante uma adição de levedura altamente precisa e repetível (Boulton, 2013; Oliver, 2011a).

Na Tabela 2 são apresentados alguns tipos de leveduras e suas estirpes aplicados a cervejas bases distintas, baseados em processos de fermentação em garrafa encontrados na literatura (Canónico et al., 2014; Saison et al., 2010).

**Tabela 2.** Estirpes de levedura utilizadas em processos de fermentação em garrafa

Cerveja base	Levedura
Ale	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (WLP 550, S-04, DBVPG 2168, BF-DS01)
	<i>S. pastorianus</i> (TF-DS04, TF-DS13)
	<i>Brettanomyces bruxellensis</i>
Lager	<i>S. cerevisiae</i> (DS-08)

No processo de fermentação em garrafa, geralmente são utilizadas estirpes de alta fermentação, como a *S. cerevisiae*, porém podem ser também utilizadas estirpes de baixa fermentação, como a *S. pastorianus*. As leveduras de alta e baixa fermentação não são necessariamente utilizadas em cervejas base ale e lager, respetivamente. A *Brettanomyces* é considerada um contaminante para a maioria dos tipos de cervejas, concedendo-lhes características indesejáveis. No entanto são alguns os fabricantes,

geralmente de cervejas tradicionais, que apreciam as particularidades que a *Brettanomyces* confere ao sabor da cerveja, utilizando-a assim para promover a fermentação em garrafa.

Após o processo de refermentação, a levedura pode ou não ser removida da garrafa. Como já referido anteriormente, no método *Champenoise* a levedura é removida depois de decorrido o período fermentativo, no entanto o produtor de cerveja pode optar por não remover. Na produção de cerveja fermentada na garrafa, a levedura pode continuar na garrafa sedimentando no fundo (ex.: cerveja Cooper's Ale da Austrália), permitindo assim que a mesma contribua para o desenvolvimento das características da bebida ao longo do tempo (Oliver, 2011a; Young & Lewis, 2002).

#### 2.6.6 Tipo de embalagem

Um aspeto importante está relacionado com o material a utilizar, como por exemplo a garrafa deve ser suficientemente resistente para aguentar a pressão gerada no seu interior pela conversão dos açúcares em CO<sub>2</sub>. A forma das garrafas deste tipo de cerveja é variada, como é possível observar na Figura 6, na qual é possível denotar que as cervejas de 75 cL geralmente optam por um formato semelhante ao utilizado para o champanhe, porém as de volume menor, 50 cL e 33 cL recorrem a garrafas com formato variado. Em relação à cor, a grande maioria das cervejas fermentadas em garrafa optam pela cor âmbar. As garrafas desta cor, ou mesmo de cor castanha, são as que apresentam melhor habilidade de bloqueio da luz exterior, no entanto esta coloração não previne, apenas atrasa os efeitos inevitáveis da luz (Oliver, 2011b).



**Figura 6.** Distintos formatos de cervejas fermentadas em garrafa existentes no mercado: a) Fullers 1845 (Inglaterra); b) The bruery – Saison Rue (USA); c) Erdinger Oktoberfest-Weizen (Alemanha); d) The Gravoche (França); e) Arend Blond 33 cL (Bélgica); f) Barbär 33 cL (Bélgica); g) Duvel (Bélgica); h) Deus (Bélgica); i) Eisenbahn Lust (Brasil) (adaptado de Belgian Happiness, n.d.; RateBeer, n.d.).

Assim, as garrafas são geralmente feitas de vidro grosso, de cor âmbar e apresentam ainda um rebordo, no qual uma cápsula pode ser cravada (Oliver, 2011b).

Normalmente na selagem das garrafas, é utilizada a cápsula metálica, a rolha e arame (tipo usado no champanhe) e o *wire-labe top* (mais caras), as quais se podem observar na Figura 7 (Oliver, 2011b).



**Figura 7.** Rolha utilizadas em cervejas fermentadas na garrafa: a) cápsula metálica, b) rolha e arame, c) wire-labe top (adaptado de Belgian Happiness, n.d.; RateBeer, n.d.).

Normalmente no método *Champenoise* durante o processo de refermentação em garrafa é utilizada uma cápsula metálica e posteriormente, após retirar os resíduos de levedura, é colocada uma rolha de cortiça.

#### 2.6.7 Boas práticas durante o processo

Independentemente de como é realizado, o processo de fermentação em garrafa requer uma limpeza absoluta, tanto na produção da cerveja como no processo de enchimento. A qualidade da cerveja pode ser afetada devido a modificações no sabor e espuma, crescimento microbiano e ocorrência de turvação. Contudo, estas alterações podem ser evitadas seguindo regras de boas práticas relacionadas com todo o processo de produção. As regras de boas práticas que normalmente se aplicam na produção de cerveja deverão ser igualmente aplicadas na produção de cerveja fermentada na garrafa, como por exemplo, todos os equipamentos envolvidos no processo deverão ser impecavelmente desinfetados e/ou esterilizados (Dunn, 2006).

No entanto, no processo de refermentação em garrafa uma etapa crucial e que merece especial atenção é o ato de enchimento das garrafas. Previamente ao enchimento, outro importante fator são os ingredientes que serão adicionados à cerveja que passará pela refermentação, devendo estes estar esterilizados, não constituindo assim um perigo de contaminação do produto. O enchimento da cerveja

refermentada pode ser manual ou semi-manual, e é realizado recorrendo a equipamentos muito simples. No momento do acondicionamento existem algumas regras importantes que devem ser seguidas (Dunn, 2006; Oliver, 2011c; Santos, 2005):

- As garrafas que serão utilizadas neste processo deverão ser retiradas da embalagem apenas no momento do enchimento, ou então deverão ser corretamente higienizadas e esterilizadas previamente;
- Não se deve encher a garrafa em demasia pois o CO<sub>2</sub> necessita de espaço para expandir;
- Todos os equipamentos em contacto direto com a cerveja devem ser todos desinfetados e/ou esterilizados;
- Os técnicos que irão proceder ao enchimento devem ter cuidados para que eles próprios não constituam um perigo de contaminação (ex.: usar luvas, máscaras).

Este cuidado máximo deve ser tido em consideração desde que a cerveja saia da cuba/tanque até chegar à garrafa e esta, por sua vez, estar completamente selada. Após a etapa de enchimento estar concluída, as garrafas são seladas com uma cápsula, seguindo posteriormente para o armazenamento durante o período de refermentação. O transporte e mesmo o próprio armazenamento, deverão ser realizados com a garrafa na posição vertical e com a cápsula voltada para cima (Branthill Farm, n.d.).

## **2.7 Análise da Qualidade da cerveja**

Um produto final deve ser avaliado quanto à sua qualidade, de forma a perceber a sua durabilidade no mercado. Uma avaliação do produto final para ser completa, deve envolver diferentes aspetos, nomeadamente deve ser realizada uma análise físico-química, análise microbiológica e ainda análise sensorial.

### **2.7.1 Monitorização Físico-Química**

A monitorização físico-química é uma componente muito importante quando se pretender produzir um produto com elevada qualidade. Sendo assim, existem certos parâmetros que devem ser acompanhados continuamente, como por exemplo: Extratos (Primitivo, Aparente e Real); Atenuação; Álcool; pH; Coloração; Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>); Diacetilo; Estabilidade da espuma; Amargor; Dióxido de Enxofre (SO<sub>2</sub>); Turvação; Álcoois e Ésteres; Acetaldeído; Dimetilsulfureto (DMS).

#### a) *Extratos (Primitivo, Aparente e Real)*

O extrato primitivo, também referido como extrato original, indica o teor de sólidos totais presentes no mosto antes da fermentação. Este parâmetro pode ser calculado a partir da gravidade original do mosto, e é expresso em °Plato (°P). Esta unidade de medida é uma expressão do teor de açúcares presentes no mosto, sendo que por exemplo 10 °P corresponde a 10 g de açúcar em 100 g de mosto (Munroe, 2006a; Rhodes, 2014b).

À medida que a fermentação decorre os açúcares vão sendo convertidos, e realizando uma medição direta ao produto, esta irá indicar o teor de açúcares ainda presente na cerveja, isto é o extrato aparente. No entanto o método de medição compara o peso dos sólidos dissolvidos com o peso da água, porém à medida que o processo fermentativo decorre o líquido deixa de ser apenas água, mas sim uma mistura de água e álcool. Desta forma, o teor de açúcar que o extrato aparente indica é menor do que aquele que a cerveja final realmente contém, pois o álcool tem uma gravidade específica substancialmente menor do que a água. O extrato real expressa a verdadeira concentração de açúcares da cerveja, podendo ser determinado a partir da amostra quando isenta de álcool (ex.: remoção por destilação) ou a partir das densidades do extrato, do álcool e da água recorrendo a formulas pré-estabelecidas (ex.: Formula de *Tabarié*). Tanto o extrato aparente como real são expressos em °P (Munroe, 2006a; Parkes, 2011).

#### b) *Atenuação*

Este parâmetro é simplesmente a percentagem de açúcares do mosto que foram convertidos durante o processo fermentativo em CO<sub>2</sub> e álcool (e outros compostos em menor quantidades). A atenuação é assim expressa em percentagem (%) (Munroe, 2006b).

#### c) *Álcool*

Na cerveja, e como em qualquer processo fermentativo um dos principais produtos é o etanol. Este parâmetro é muito importante para o produto, pois é um fator que contribui para a sua estabilidade microbiológica. Este é expresso por volume (% v/v), e um dos métodos da sua determinação é através de um espectrómetro NIR (*Near Infrared Reflectance*) (Schropp, Bruder, & Forstner, 2002).

#### d) *pH*

O pH, assim como o teor de álcool de uma cerveja, é um dos fatores cruciais para a estabilidade microbiológica do produto. Ao logo do processo fermentativo, este parâmetro vai reduzindo à medida que os ácidos orgânicos são produzidos e compostos tampão vão sendo consumidos (aminoácidos básicos e fosfatos primários). O pH do mosto normalmente encontra-se entre 5,3 e 5,5 (valores ótimos

entre 5,0 e 5,2), enquanto o da cerveja varia entre 4,3 e 4,6 (valores ótimos entre 4,2 e 4,3). O valor mínimo de pH atingido no processo fermentativo é influenciado pelo pH do mosto, capacidade tampão do mosto e o nível de crescimento da levedura. Este parâmetro normalmente é determinado por medição direta da amostra através de um eléctrodo (Kunze, 2004c; Munroe, 2006b).

#### *e) Coloração*

A cor de uma cerveja está ligada à cor do malte utilizado, sendo que três momentos relevantes na medição deste parâmetro são após o malte estar pronto (quando termina a etapa de secagem), quando o mosto está finalizado e quando a cerveja está pronta ser consumida. A cor adquirida é principalmente influenciada pelo tipo de malte utilizado, no qual os principais constituintes da cor são as melanoidinas produzidas pelas reações Maillard. Estas reações são provocadas pelo aumento de temperatura, sendo que diferentes métodos de aquecimento com diferentes açúcares e aminoácidos produzem, conseqüentemente cores diferentes. Porém existem outros fatores que também afetam este parâmetro, nomeadamente as matérias-primas, as condições do próprio processo (ex.: longos períodos de ebulição do mosto a altas temperaturas promovem maior caramelização dos açúcares escurecendo assim a sua cor), entre outras (Palmer, 2003; Rhodes, 2014a).

Na literatura são utilizadas comumente três escalas de cor, a SRM (Standard Reference Method, a Lovibond e a EBC (European Brewery Convention). As escalas SRM e Lovibond são aproximadamente as mesmas, quando relacionadas com a escala EBC são duas vezes menores, sendo o fator de conversão atual de 1,97 ( $EBC=SRM*1,97$ ). A metodologia EBC para a determinação da cor baseia-se na leitura da absorvância dos produtos, sendo que os resultados são posteriormente expressos em unidades EBC (Kunze, 2004c; Palmer, 2003; Rhodes, 2014a).

#### *f) Dióxido de Carbono*

O  $CO_2$  tem um papel importante em diferentes aspectos da cerveja, nomeadamente na percepção sensorial da cerveja, na produção das espumas, e ainda em conjunto com outros parâmetros é crucial para a resistência microbológica do produto. É ainda relevante que o teor de  $CO_2$  não seja muito baixo, pois torna a cerveja aguada e afeta a estabilidade microbológica, mas também que não seja demasiado elevado, pois além de afetar a qualidade da cerveja pode ainda constituir um perigo para o consumidor (ex.: a garrafa pode explodir). A determinação do teor de  $CO_2$  presente na amostra pode ser determinado por métodos manométricos, os quais são baseados na medição da pressão da amostra a uma certa temperatura. Estes métodos são baseados nas leis de Henry e Dalton, segundo as quais a uma temperatura definida, a concentração de um gás (ideal) dissolvido num líquido é

proporcional à pressão parcial do gás na fase gasosa, desde que esteja em condição de equilíbrio. Esta condição pode ser atingida, através da agitação vigorosa ou inversão constante da garrafa, seguindo-se posteriormente a medição imediata. Normalmente, o teor de dióxido de carbono é apresentado em gramas por litro (g/L) (Kunze, 2004c).

#### *g) Diacetilo*

O diacetilo tem uma grande influência no aroma da cerveja, sendo que quando se encontra acima do limiar da percepção confere à cerveja um sabor adocicado mas repugnante, e se a concentração for muito elevada pelo aroma a manteiga. Outro composto que confere os mesmos efeitos no aroma da cerveja, porém com um limiar de percepção bem superior, é a pentanodiona sendo por esta razão analisada em conjunto com o diacetilo. O diacetilo e a pentanodiona são conhecidos como dicetonas vicinais, uma vez que ambos são dicetonas com grupos de cetonas adjacentes. A quebra destas dicetonas vicinais ocorrem aquando a maturação e é considerado um critério decisivo no estado de maturação do produto. A remoção e formação das dicetonas vicinais ocorrem em três etapas, a primeira é a formação dos precursores (surgem durante a síntese de aminoácidos pela levedura e não tem odor ou sabor), a segunda etapa é a conversão destes precursores em dicetonas vicinais (ácidos acetohidróxi dão origem às dicetonas vicinais do diacetilo e a pentanodiona por descarboxilação oxidativa), a terceira e última etapa é a redução das dicetonas (apenas podem ser removidas pelas células de levedura que transforma o diacetilo em acetoina e posteriormente em butanodiol). No entanto, nesta terceira etapa existem fatores que podem afetar a sua eficácia, como o facto de numa segunda refermentação a taxa de redução é bem menor do que na primeira. (Kunze, 2004a)

Uma das formas de analisar o diacetilo e a pentanodiona na cerveja é através de cromatografia gasosa, sendo que o primeira deve estar presente em quantidades inferiores a 0,10 mg/L de forma a garantir a qualidade do produto (Kunze, 2004c).

#### *h) Estabilidade de Espuma*

A espuma é uma componente muito importante para a qualidade do produto, devendo ser por isso regulada. A formação de espuma ocorre como resultado da libertação das bolhas formadas pelo CO<sub>2</sub> devido redução da pressão, e à medida que vão subindo as bolhas de CO<sub>2</sub> vão recolhendo substâncias tensoativas. Por sua vez, estas tem uma baixa tensão artificial o que significa que dentro de limites podem aumentar a sua área superficial e, também, após as bolhas subirem, formar uma pele elástica em volta da bolha de gás. Quanto maior a quantidade de CO<sub>2</sub> dissolvido maior é a espuma formada, no

entanto apenas é estável na presença destas substâncias tensioativas (Kunze, 2004c; O'Rourke, 2002a).

A estabilidade da espuma pode ser afetada por diversos fatores, nomeadamente por fatores relativos à produção da cerveja (resinas do lúpulo, proteínas do malte, pH, entre outros). Por exemplo, a espuma pode ser prejudicada pela levedura se estiver danificada por armazenamento impróprio, colheita tardia ou multiplicação insuficiente. Um armazenamento a uma temperatura demasiado elevada durante um período de tempo extenso ou a uma pressão muito elevada, levará conseqüentemente a levedura a aumentar a segregação de produtos de deterioração que danificarão a espuma. Outros fatores externos ao processo de produção incluem a utilização de copos sujos com gordura, pois os lípidos e detergentes prejudicam a espuma, formando em volta das bolhas de CO<sub>2</sub> uma parede, impedindo a estabilização pelas substâncias tensioativas. A estabilidade da espuma pode ser determinada segundo o método de NIBEM, no qual é medido o tempo que um certo volume de espuma leva até abater 10 mm, 20 mm ou 30 mm, e os resultados são apresentados em segundos (s). Normalmente para este método, valores inferiores a 220 s são maus, entre 260 s e 280 s são bons, e acima de 300 s são muito bons (O'Rourke, 2002a; Kunze, 2004c).

#### *i) Amargo*

A determinação do amargor é importante para o controlo da qualidade, pois influencia na estabilidade microbiológica, equilíbrio organoléptico e, ainda ajuda na performance da espuma. Nesta análise são avaliados os ácidos iso- $\alpha$  e outros compostos do amargo presentes no mosto ou na cerveja, revelando a sua intensidade. As substâncias amargas são provenientes da isomerização do lúpulo, isto é, após adição do lúpulo os ácidos- $\alpha$  são extraídos das suas glândulas, e como resultado do aquecimento destes compostos ocorre a sua conversão em ácidos iso- $\alpha$ . Quanto maior for o período de aquecimento, maior será a quantidade de ácidos- $\alpha$  convertidos e, conseqüentemente, maior será o amargor (Shellhammer & Peacock, 2011).

Normalmente o amargor é apresentado nas unidades IBU (International Bitterness Unit), por vezes é apresentado por BU (Bitterness Units) ou em português UA (Unidades de Amargor), onde 1 IBU corresponde a 1 mg/L de ácidos iso- $\alpha$  em solução. Para a determinação deste parâmetro, normalmente recorre-se ao iso-octano para extrair as substâncias amargas do mosto, sendo a amostra posteriormente analisada por espectrofotometria ultravioleta. Os ácidos iso- $\alpha$  são intensamente amargos, e o limiar de perceção é aproximadamente 6 mg/L a 7 mg/L, porém como a perceção do amargo é um pouco subjetiva, alguns estudos permitem uma gama de 4 mg/L a 11 mg/L. O amargor

é um parâmetro que varia muito entre os diferentes estilos de cerveja, no entanto no geral as cervejas podem variar entre 1 e 110 IBUs (Brynildson, 2011; Peacock, 2011).

*j) Dióxido de Enxofre (SO<sub>2</sub>)*

O dióxido de enxofre é um composto volátil relevante no processo de produção de cerveja, sendo produzido naturalmente aquando a fermentação em quantidades muito reduzidas (abaixo de 10 mg/L). Esta pequena quantidade é necessária para ajudar a retardar mudanças oxidativas que podem prejudicar o aroma fresco da cerveja e diminuir o seu tempo de prateleira. No entanto, este composto não pode ser muito elevado, pois quando se encontra abaixo de 20 mg/L, já é possível determinar um odor sulfuroso intenso, e quando acima de 10 mg/L deve ser mencionado no rótulo. A determinação do dióxido de enxofre pode ser realizada por um equipamento denominado Skalar San, o qual consiste num sistema de análise em fluxo segmentado (Munroe, 2006a).

*k) Turvação*

A turvação é um aspeto importante para a aparência de muitas cervejas, podendo ser causada por microrganismos ou por elementos não vivos (ex.: coagulação de substâncias coloidais). Quando a turvação está presente sob todas as condições denomina-se “turvação permanente”, porém caso a turvação esteja presente quando a cerveja é arrefecida até 0 °C, mas não quando este parâmetro é medido na cerveja a 20 °C, denomina-se “turvação fria”. No entanto, se a cerveja parecer brilhante mas apresentar elevada turvação após a análise, diz-se ter turvação invisível. A turvação deve-se à constituição de pontes de hidrogénio entre proteínas e polifenóis, e à ligação iónica de metais aos grupos laterais destes polímeros. Na turvação permanente estas ligações são fortes tornando a cerveja turva em ambas as situações, na turvação fria as ligações são fracas, sendo que a turbidez só se evidencia quanto a temperatura está baixa, pois aumentando a temperatura a turvação diminui. Uma cerveja filtrada que esteja límpida, com o passar do tempo perde o seu brilho até que por fim se torna turva, sendo por isso relevante perceber logo inicialmente por quanto tempo a cerveja se manterá estável (Bamforth, 2011; Ryder & Power, 2006).

A determinação da turvação a 20 °C é realizada, após as cervejas estarem num banho para atingirem essa temperatura, por um turbidímetro (baseia-se na medição da intensidade da luz difundida pela cerveja). Relativamente à turvação total, as amostras de cerveja são submetidas a temperatura elevada por banho ou estufa durante um certo período de tempo (ex.: 5 dias), sendo posteriormente arrefecidas até 0 °C, temperatura a que se faz a leitura. A turvação é apresentada em unidades EBC, sendo que normalmente uma cerveja brilhante quando vai para o mercado deve ter cerca de 0,8 EBC, por sua

vez, medindo a turbidez de uma cerveja a 0 °C, esta geralmente é menor do que 3 ou 2 EBC (Kunze, 2004c; O'Rourke, 2002b).

#### *l) Álcoois e Ésteres*

Os álcoois superiores são compostos que influenciam o aroma final da cerveja, e podem formar-se de diversas formas: pela conversão dos aminoácidos realizada pela levedura (deaminação, descarboxilação e redução), por meio dos intermediários ácidos hidróxi e ceto-ácidos, e ainda podem ser sintetizados a partir do açúcar por meio do acetato. A produção de álcoois superiores aumenta com o aumento da temperatura de fermentação, redução da concentração de aminoácidos no mosto, aumento da concentração do mosto acima de 13 %, entre outros. A diminuição destes compostos deve-se a uma fermentação mais fria, temperatura de inóculo mais fria, entre outros. Quando as concentrações dos álcoois se encontram acima de 100 mg/L pode haver efeitos negativos no sabor e aceitabilidade da cerveja (Kunze, 2004a).

Os ésteres são dos compostos que mais contribuem para o aroma final da cerveja conferindo-lhe um aroma frutado, porém quando em concentrações muito elevadas confere um aroma desagradável. Estes compostos formam-se durante a fermentação, por esterificação dos ácidos gordos e em pequenas quantidades por esterificação dos álcoois superiores. Durante uma segunda fermentação a quantidade de ésteres pode duplicar caso esta tenha um período muito longo. A quantidade de ésteres presente varia consoante o tipo de cerveja, sendo que cervejas de alta fermentação contém até 80 mg/L, enquanto as cervejas de baixa fermentação contém até 60 mg/L. A produção de ésteres aumenta com o aumento da temperatura de fermentação, aumento da atenuação, aumento do arejamento do mosto, entre outras. Por outro lado, a sua produção diminui com baixa temperatura de fermentação, aumento da pressão durante a fermentação, entre outros (Kunze, 2004a; Yilmaztekin, Cabaroglu, & Erten, 2013).

No entanto, além das concentrações individuais de álcoois e de ésteres, particularmente relevante é a relação entre estes dois compostos, sendo que uma razão favorável entre ambos é 1:2,5 a 3. As concentrações de álcoois e ésteres podem ser determinadas por cromatografia gasosa (Kunze, 2004a).

#### *m) Acetaldeído*

O acetaldeído é um produto formado pela levedura na fase final da fermentação alcoólica, este é excretado para a cerveja imatura, sendo assim responsável pelo aroma da cerveja nesta fase. Ao longo do processo de fermentação o acetaldeído começa a reduzir pois é convertido em etanol através de uma reação enzimática, reduzindo conseqüentemente o aroma imaturo da cerveja (Kunze, 2004a).

Este composto aumenta com fermentações rápidas, temperaturas elevadas durante a fermentação, quantidade de levedura elevada, entre outros. Todavia, a sua redução é favorecida por medidas que promovam uma fermentação secundária e maturação, uma maturação com temperaturas mais elevadas, aeração do mosto suficiente, e aumento do teor de levedura durante a maturação. Em cervejas fermentadas na garrafa têm sido observado um aumento de acetaldeído durante pasteurização e armazenamento, especialmente se o teor de ar no *headspace* for elevado. Na cerveja imatura o teor de acetaldeído é cerca de 20 mg/L a 40 mg/L, porém ele decresce até que as concentrações típicas encontradas na cerveja final pertencem à gama de 2 mg/L a 15 mg/L. A cromatografia gasosa é um dos métodos de determinação do teor de acetaldeído (Barnes, 2013; Kunze, 2004a; Russel, 2006).

#### *n) Dimetilsulfureto (DMS)*

O DMS é um composto aromático importante da cerveja, o qual surge da produção do mosto e por via metabólica da levedura. Quando a sua concentração é reduzida é considerado um componente essencial que contribui para o sabor e aroma característico da cerveja lager, porém se a sua concentração for muito elevada torna-se desagradável. Os precursores deste composto, ambos oriundos do malte, são a *S*-metilmetionina (SMM) e o dimetilsulfóxido (DMSO), sendo que pode surgir devido à degradação térmica do SMM em DMS aquando a etapa de secagem do malte ou durante a preparação do mosto, ou então a partir do DMSO durante o processo de fermentação (Palmer, 2006; Russel, 2006).

A concentração de DMS aumenta com a escolha do malte (uns tipos de malte tem mais DMS do que outros), uma ebulição do mosto fraca com pouca duração, infeção bacteriana ou por leveduras selvagens. Por outro lado, a sua redução acontece quando o malte usado é de boa qualidade, temperatura de secagem do malte por volta de 75 °C, praticar uma boa higienização, entre outros. Normalmente o DMS na cerveja encontra-se em concentrações que vão de 10 µg/L a 150 µg/L, porém o limiar de perceção encontra-se entre 25 µg/L e 50 µg/L. A determinação do DMS pode ser realizada por cromatografia gasosa (Barnes, 2013).

#### 2.7.2 Análise microbiológica

A cerveja é um ambiente que tem muitas características que inibem o crescimento microbiológico, nomeadamente o baixo pH, quantidade de etanol presente, é um ambiente anaeróbico, e ainda, o

líquido é carbonatado. A maioria dos contaminantes tem origem nas matérias-primas ou mesmo nos equipamentos mal limpos ou danificados (Ryder & Power, 2006).

O controlo microbiológico tem a função de detetar microrganismos estranhos ao produto, o mais cedo possível de modo a descobrir as possíveis fontes de contaminação, e assim adotar medidas de prevenção ao seu crescimento. Nem todos os microrganismos encontrados no mosto ou cerveja são organismos de deterioração, distinguindo-se assim três grupos (Kunze, 2004c):

- Microrganismos inofensivos: consistem em esporos de mofo e muitas espécies de bactérias e leveduras, os quais não podem crescer na cerveja e conseqüentemente morrem, porém a sua presença pode indicar a existência de outros microrganismos indesejáveis.
- Microrganismos potencialmente prejudiciais: apenas se podem multiplicar na cerveja final quando as condições são favoráveis (ex.: teor de oxigénio elevado, pH relativamente elevado – entre 4,7 a 4,8, ou se o amargor está baixo), e normalmente incluem, por exemplo, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*, *Enterobacteriaceae*.
- Microrganismos obrigatoriamente prejudiciais: desenvolvem-se até numa cerveja sem oxigénio e com um baixo pH pois são imunes a estes parâmetros, e tendo tempo suficiente multiplicam-se, mesmo quando a cerveja já está na garrafa. Inicialmente formam um depósito e posteriormente torna o conteúdo totalmente turvo, adicionalmente confere defeitos ao sabor e aroma que tornam o produto inaceitável. Estes microrganismos incluem *Lactobacillus brevis*, *Pectinatus cerevisiiphilus* e *Megasphaera cerevisiae*.

Existem leveduras que também podem deteriorar a cerveja, sendo elas células de levedura que ainda estão presentes na cerveja mesmo depois da filtração, ou leveduras selvagens. As leveduras *Saccharomyces* selvagens estão relacionadas com a cultura da levedura mas não são desejáveis pois causam defeitos no produto, e entre elas estão *Saccharomyces diastaticus*, *Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces ellipsoideus*. As outras leveduras selvagens que surgem incluem *Brettanomyces*, *Torulopsis*, *Hansenula* e *Candida*. No geral, as leveduras selvagens quando se multiplicam produzem sedimentos, causam turvação na cerveja e defeitos no seu sabor (Kunze, 2004c).

O controlo microbiológico tem a função de detetar estes microrganismos indesejáveis o quanto antes, e para tal existem inúmeras análises e respetivos planos pré-estabelecidos, como por exemplo para recolher as amostras que serão analisadas. As amostras analisadas microbiologicamente devem ser sempre recolhidas e manuseadas sob condições estéreis, de forma a não haver risco de contaminação.

Normalmente após recolhidas são espalhadas em placas Petri que contém um meio rico nutrientes, sendo posteriormente incubadas a uma certa temperatura. Caso existam microrganismos contaminantes presentes, eles irão crescer e formar colónias (Kunze, 2004c).

### 2.7.3 Análise Sensorial

Este tipo de análise é de grande importância pois através dela é possível avaliar parâmetros que não podem ser medidos analiticamente. As características avaliadas neste tipo de análise, são relativos aos inúmeros aspetos do sabor e aroma, e são aquelas que mais cativam e sobressaem ao consumidor. Para avaliar com rigor um produto, devem ser seguidas algumas regras pré-estabelecidas e os provadores devem ser previamente selecionados e treinados (Kunze, 2004c).

Numa análise sensorial, são necessários provadores que detetem diferenças pequenas no sabor e aroma, defeitos que por vezes não são facilmente detetados. Existem ainda regras que concernem à forma como os produtos são apresentados, como por exemplo a quantidade de produto que cada copo deve levar, a apresentação dos produtos deve ser do mais leve ao mais forte, ou ainda do teor de álcool menor para o maior, de forma a não condicionar o palato do provador evitando uma consequente avaliação errónea dos produtos seguintes. Os produtos levados a prova, vão desde produtos que estão prestes a ir para o mercado, produtos que estão no mercado e necessitam de avaliações de forma a confirmar que o produto continua com qualidade, ou mesmo produtos que já tem um certo tempo para avaliar quando se inicia a deterioração do sabor e aroma (Kunze, 2004c).

Existem inúmeros testes sensoriais, como por exemplo testes que avaliam a perspetiva do consumidor, onde o provador abre o produto e consome-o na totalidade avaliando por fim como o produto se saiu, ou ainda testes nos quais são colocados os defeitos nas bebidas de forma a testar os provadores se os conseguem detetar. No presente projeto foram utilizados três testes sensoriais, nomeadamente Avaliação Organolética, Estabilidade Organolética e Teste Triangular.

A Avaliação organolética consiste numa avaliação do produto, identificando as suas melhores características, os defeitos, e dando-lhe uma avaliação quanto à sua qualidade. O provador recebe um boletim para anotar as suas impressões sobre o produto, de modo a que a pessoa encarregue da prova possa reunir os resultados e fazer uma avaliação global. Os objetivos da prova variam, podendo ser para avaliar um produto prestes a ir para o mercado, avaliar um produto à medida que envelhece, ou apenas fazer um controlo sistemático de um produto.

Numa análise de Estabilidade Organolética, os produtos são avaliados quanto ao sabor e aroma após terem sido submetidos a certas condições, de modo a perceber se a qualidade do produto se manterá satisfatória após algum tempo no mercado.

O Teste Triangular consiste na apresentação de dois produtos em três copos, e o seu objetivo é perceber se dos três copos apresentados o painel de provadores consegue detetar aquele que é diferente. Nesta análise é dado aos provados um boletim, no qual têm de indicar se detetam a amostra diferente, e a sua preferência entre ambos os produtos.



### 3. MÉTODOS DE ANÁLISE

Ao longo deste projeto foram recolhidas inúmeras amostras, para análise dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais, tendo em vista o controlo de qualidade das cervejas. As amostras recolhidas, sujeitas à monitorização físico-química e microbiológica, que requeriam a utilização de equipamentos altamente especializados, foram analisadas pelos analistas do Laboratório Central, do departamento da qualidade da Unicer, seguindo protocolos da empresa.

#### 3.1 Monitorização físico-química

##### 3.1.1 Extratos (Primitivo, Aparente e Real), Atenuação, Álcool, Coloração e pH

A determinação dos extratos, atenuação, álcool, pH e coloração das amostras de cerveja, foi possível através de um analisador automático de cerveja da Anton Paar, o *Beer Analyser*. Este equipamento tem incorporado um densitómetro e um *alcolyser* (com um colorímetro e um medidor de pH integrados). O densitómetro digital baseia-se na pressão hidrostática do fluido para ler a densidade da cerveja, utilizando o método do tubo em U oscilante. Através da densidade relativa da cerveja, o analisador calcula automaticamente os extratos. Por sua vez, a atenuação real é calculada a partir do extrato real e do teor de álcool da amostra. O *alcolyser* permite a leitura da percentagem de álcool que a cerveja apresenta, através de um espectrómetro NIR (*Near Infrared Reflectance*). A coloração é também determinada por espectrometria (comprimento de onda de 430 nm), sendo que o valor de absorvência obtido é convertido através da lei de *Lambert-Beer* em unidades EBC. Por fim, a leitura do pH é realizada através de um potenciómetro. As amostras examinadas pelo analisador automático da Anton Paar, foram previamente colocadas no banho de água a 20 °C, filtradas e descarbonatadas (Unicer, 2004a).

##### 3.1.2 CO<sub>2</sub>

Este parâmetro foi determinado através de outro equipamento da Anton Paar, o medidor de CO<sub>2</sub> Carbo QC. O princípio baseia-se na determinação da pressão e temperatura do gás após ser estabelecido um equilíbrio entre o CO<sub>2</sub> dissolvido e o CO<sub>2</sub> gasoso (conseguido pela inversão repetida do recipiente), ao qual é efetuada a respetiva correção do teor do ar (caso exista). A conversão em concentração de CO<sub>2</sub>

acontece por meio do algoritmo de cálculo introduzido no equipamento, o qual relaciona a temperatura e pressão versus o teor de CO<sub>2</sub>. Este equipamento permite ainda reduzir as interferências causadas por gases pouco solúveis, como o O<sub>2</sub> e o azoto (ar). As amostras antes de serem colocadas no equipamento, foram previamente invertidas 10 vezes seguidas, de forma a atingir o equilíbrio necessário para a medição (Unicer, 2011b).

### 3.1.3 Diacetilo e Pentanodiona

A determinação dos parâmetros em questão, foi realizada por meio de cromatografia gasosa. Neste método, a amostra é arejada e aquecida a 60 °C durante 90 min para converter os precursores em componentes livres, isto é,  $\alpha$ -acetolactato em diacetilo e o  $\alpha$ -aceto-hidroxitirato em pentanodiona. Posteriormente, o diacetilo e a petanodiona são detetados por um detetor de captura electrónica, cujos resultados são padronizados em relação a uma cerveja com adições de diacetilo e 2,3-pentanodiona, como padrão externo. Os teores em diacetilo e 2,3-pentanodiona são obtidos diretamente do sistema, sendo apresentados em mg/L e com duas casas decimais. As amostras analisadas antes de serem colocadas no equipamento, foram filtradas e descarbonatadas (Unicer, 2004f).

### 3.1.4 Estabilidade de Espumas

A estabilidade da espuma das amostras de cerveja foi determinada pelo método de NIBEM. O princípio deste método, consiste na contagem do tempo que um certo volume de espuma demora a abater 10 mm, 20 mm e 30 mm. O nível da espuma é medido por um sistema de eléctrodos móvel que reage sobre a condutibilidade da espuma. O sistema é composto por 5 agulhas, sendo que a central é a mais longa e por isso encontra-se mergulhada na cerveja. Assim que uma das quatro agulhas exteriores toca na espuma, o movimento descendente do eléctrodo pára até que o contacto seja interrompido de novo, devido ao abatimento da espuma. Devem ser medidas no mínimo duas amostras, e o resultado final apresentado deve ser o cálculo da média dos valores obtidos no equipamento. Antes de serem analisadas, as amostras necessitaram apenas de ser colocados num banho de água a 20 °C durante 20 min (Unicer, 2004h).

### 3.1.5 Unidades de Amargor

O nível de amargor das amostras de cerveja, foram determinadas recorrendo à espectrofotometria de ultravioleta. As substâncias amargas, essencialmente ácidos iso- $\alpha$ , são extraídos do mosto após

acidificá-lo através do iso-octano, sendo posteriormente lidas por espectrofotometria ultravioleta. As amostras necessitaram assim de uma preparação prévia, a qual se iniciava com a colocação das mesmas em banho de água a 20 °C por 15 min. De seguida, colocou-se 10 mL da amostra num matraz, adicionou-se uma gota de álcool octílico à amostra de cerveja para descarbonatar, e filtrou-se em papel. Depois adicionou-se 0,5 mL de ácido clorídrico e 20,0 mL de iso-octano, tapou-se o matraz e colocou-se a agitar durante 15 min. No fim deixou-se repousar entre 3 min a 5 min (até serem visíveis duas camadas), e colocou-se a amostra na covete para efetuar a leitura da absorvência a 275 nm. Multiplicaram-se os resultados obtidos por 50 e obtiveram-se as unidades de amargor de cada amostra (Unicer, 2004b).

### 3.1.6 SO<sub>2</sub> Total

O SO<sub>2</sub> total das amostras de cerveja foi medido através de um procedimento que consiste num sistema de análise em fluxo segmentado, denominado SKALAR San. Este por sua vez, baseia-se numa prévia acidificação da amostra com ácido sulfúrico, seguida de um aquecimento a 90 °C para libertar dióxido de enxofre presente sob a forma complexada (grupos carbonilo de cetonas e aldeídos). O SO<sub>2</sub> libertado é então separado por uma membrana de diálise e recolhido numa solução de formaldeído, formando-se o aducto ácido hidroximetanosulfónico. Este, é posteriormente convertido por reação com o reagente *p*-rosanilina num complexo corado (máximo de absorção a 560 nm), cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de dióxido de enxofre. Com as leituras das absorvências, multiplica-se pelo factor da reta de calibração (*F*), obtendo-se o teor de SO<sub>2</sub> em mg/L. As amostras examinadas foram previamente armazenadas no frigorífico (4 °C), e antes da análise foram desgaseificadas (Unicer, 2011a).

### 3.1.7 Turvação

As amostras de cerveja foram submetidas à análise da turvação a 20 °C e da turvação total, a qual se resume à deteção de partículas na cerveja, especialmente de tamanho inferior a 1 µm, a partir de um turbidímetro do tipo HZ-013. Esta metodologia consiste na comparação da intensidade da luz difundida pela amostra, sob determinadas condições, com a intensidade da luz difundida pela suspensão-padrão de formazina sob as mesmas condições. Para analisar a turvação a 20 °C, as amostras foram colocadas num banho de água a 20 °C antes de efetuar a leitura. Relativamente à turvação total, as amostras foram colocadas numa estufa a 60 °C com circulação forçada de ar, durante 5 dias.

Finalizado este período, as amostras foram arrefecidas a 0 °C durante 24 h, seguindo-se a leitura a esta temperatura. Os resultados foram apresentados em unidades EBC (Unicer, 2004i; Unicer, 2004m).

### 3.1.8 Álcoois e Ésteres, Acetaldeído e DMS

A determinação de álcoois, ésteres, acetaldeído e DMS das amostras de cerveja foi realizada por meio de cromatografia gasosa, utilizando uma técnica automática de *headspace*, padrão interno, coluna capilar e detetor de ionização de chama (FID). Este método baseia-se na amostragem dos compostos voláteis da cerveja que se encontram na fase de vapor, em equilíbrio no *headspace*, contidos num *hypovial* devidamente selado. Recorrendo à cromatografia gasosa, a mistura é separada nos seus componentes individuais que são detetados por um detetor de ionização de chama (FID). As amostras foram previamente colocadas no frio, e no momento da análise foram colocadas num banho de gelo. Os *vials* foram enchidos com azoto e colocados em gelo por 15 min. Em seguida pipetou-se 5,0 mL de cerveja arrefecida, adicionou-se 50 µL de solução padrão interno, selou-se os *vials* e foram colocados no auto-analisador (Unicer, 2004g).

## 3.2 Análise Microbiológica

### 3.2.1 Contagem de células

A contagem de células das amostras foi efetuada através de um contador eletrónico, o qual determina o número e o tamanho de partículas em suspensão numa solução de eletrólito. A suspensão de levedura circula através de um pequeno orifício colocado entre dois elétrodos, e quando por lá passa uma partícula é modificada a resistência entre os elétrodos, o que provoca um impulso de tensão (curta duração) com uma amplitude proporcional ao volume da partícula. Das amostras em análise foi retirado 0,4 mL para um balão volumétrico de 200 mL, perfazendo-o com Isoton. As soluções foram lidas no equipamento, sendo que os resultados expressaram-se em milhões por mL ( $10^6$ /mL) (Unicer, 2004e).

### 3.2.2 Percentagem de células mortas

Na determinação da percentagem de células mortas recorreu-se ao azul metileno, e fez-se contagem pelo método de hematimetria. As células mortas são visíveis devido à coloração azul apresentada, a

qual resulta do contacto com o azul de metileno, sendo de seguida contadas as células totais e aquelas que se encontram a azul através de um microscópio. Após ter a solução resultante (amostra + azul metileno), colocou-se uma gota no hematímetro em cada zona de contagem e colocou-se uma lâmina sobre a gota. Cada zona de contagem tem 16 quadrados grandes, cada um com 25 pequenos (total de 400 quadrados). Posteriormente fez-se a contagem das respetivas áreas através de um microscópio. Após ter a contagem de células total e a quantidade de células azuis, calculou-se a percentagem de células mortas nas amostras (Unicer, 2009).

### 3.2.3 Nocivos/ Não nocivos

Para avaliar a presença de microrganismos nocivos e não nocivos nas amostras de cerveja, recorreu-se à incubação em placas de Petri sob determinadas condições. Primeiramente recolheu-se 200 mL de cada amostra, e filtrou-se 100 mL para uma membrana e os outros 100 mL para outra. Seguiu-se a cultura e incubação das membranas, transferindo-as para placas Petri. Para determinar microrganismos nocivos, as placas de Petri foram colocadas na caixa de anaerobiose, e esta por sua vez foi incubada na estufa de incubação a 27 °C durante 7 dias. Quanto aos microrganismos não nocivos, as placas foram incubadas em aerobiose na estufa de incubação a 27 °C durante 3 dias. Finalizado o período de incubação, procedeu-se à contagem das colónias formadas em cada placa. Uma vez que as cervejas em análise continham levedura, os meios das placas de Petri foram preparados com actidione, o qual inibia o crescimento da levedura facilitando assim, a interpretação dos resultados (Unicer, 2004j).

## 3.3 Análise Sensorial

### 3.3.1 Avaliação Organolética

As amostras de cerveja submetidas a avaliação organolética, foram avaliadas quanto ao aroma e ao gosto de maneira a estabelecer se o produto apresenta ou não qualidade satisfatória. A prova sensorial foi realizada sob circunstâncias controladas, por uma equipa treinada. As amostras foram previamente colocadas no frio, e no quadro da sala foi descrito o propósito de cada prova. Seguiu-se a preparação da sala, na qual em cada lugar do provador foi colocada água mineral não carbonatada, bolachas “*Cream Crackers*”, as fichas técnicas dos defeitos, o boletim a preencher (Anexo I-A) e quando aplicável um documento a explicar as amostras testadas. Em cada prova, as cervejas foram apresentadas aos

providores em séries convenientes, sendo que os diferentes tipos de cerveja foram apresentados consoante o tipo de cerveja, das claras para as escuras, do menor teor de álcool para o maior. A escala de avaliação utilizada foi a seguinte:

- + 1: Produto de ótima qualidade;
- 0: Normal para este tipo de produto;
- - 1: Com defeitos aceitáveis para este tipo de produto;
- - 2: Com defeitos não aceitáveis para este tipo de produto;
- - 3: Com defeitos tão graves que requerem ação imediata.

Após a atribuição por escrito das avaliações e respectivas impressões de aroma e gosto detetadas, foi pedida a cada provador a avaliação fazendo uma combinação das respostas no quadro da sala, revelando assim aos provadores a qualidade de cada amostra. Quando a média das avaliações esteve entre +1,0 e -0,9 as amostras foram classificadas como satisfatórias, entre -1,0 e -1,4 foram classificadas como não suficientemente satisfatórias, e ainda se tiveram entre -1,5 e -3,0 foram classificadas como não satisfatórias (Unicer, 2004c).

### 3.3.2 Teste Triangular

O teste triangular realizado, teve o objetivo de perceber se o processo de pasteurização afeta as amostras de tal modo que fosse detetada uma diferença significativa entre as amostras. Assim, em cada prova foram testados dois produtos, um fresco e outro pasteurizado, os quais foram colocados em 3 copos (um dos produtos foi apresentado duas vezes). A sala de provas foi preparada de igual forma a uma avaliação organolética, e as amostras foram colocadas previamente no frio. Os provadores após provarem as amostras, tiveram de designar por escrito num boletim fornecido (Anexo I-B) qual a amostra diferente e qual a sua preferência. Posteriormente, as amostras foram descodificadas e cada provador foi questionado sobre as suas impressões, de forma a reunir o resultado no quadro da sala. Após a soma das respostas certas avaliou-se os resultados, sendo que a sua apresentação foi da seguinte forma: "Não há diferença significativa entre as amostras" ou então "As amostras são diferentes, com um nível de significância de:  $\geq 95\%$  ou  $\geq 99\%$  ou  $\geq 99,9\%$  (consoante o resultado), apresentando a diferença de igual modo" (Unicer, 2004d).

### 3.3.3 Estabilidade Organolética

As amostras submetidas a estabilidade organolética foram colocadas numa estufa a 37 °C com

controlo automático capaz de manter a temperatura a  $\pm 1$  °C, durante um período de 7 dias. Posteriormente as amostras foram retiradas e colocadas no frigorífico para ser realizada a avaliação sensorial. Esta por sua vez, foi realizada como uma avaliação organolética, sendo que os resultados foram também apresentados de igual forma (Unicer, 2004i).



## 4. DESCRIÇÃO DOS ENSAIOS E PROCEDIMENTOS

### 4.1 1ª Etapa: Caracterização das cervejas do mercado fermentadas na garrafa

De forma perceber a direção a seguir no desenvolvimento deste tipo de produto, iniciou-se uma pesquisa sobre as cervejas fermentadas na garrafa existentes no mercado. Após uma pesquisa, foram recolhidas algumas cervejas que existiam no mercado português, enquanto outras foram obtidas por intermediário de colaboradores da Unicer, que por sua vez as adquiriram diretamente de países como a Alemanha ou o Brasil.

Posteriormente seguiu-se a análise sensorial, tendo as cervejas recolhidas do mercado sido submetidas a uma avaliação organolética, onde os provadores mostraram a sua preferência e a avaliação para cada cerveja. Aqui as cervejas foram divididas de acordo com o tipo de cerveja (Trigo, Loiras, Ruivas e Pretas), e foram apresentadas por séries de 3 ou 4 cervejas, sendo que em cada série foram apresentadas do menor teor alcoólico para o maior. As séries apresentadas encontram-se na Tabela 3.

**Tabela 3.** Séries apresentadas na análise sensorial, as cervejas correspondentes e respetivos teores de álcool

Série	Característica	Cervejas	Álcool (%)
1ª	Cervejas de trigo	Estrella Damm Inedit	4,8
		Erdinger Weissbier	5,3
		Barbär	8
2ª	Cervejas Loiras	Orval Trappist Ale	6,2
		Saison 1858	6,4
		Affligem Blond	6,8
		Augustijn	7
3ª	Cervejas Loiras	Diabolici	8
		Duvel Strong Ale	8,5
		Delirium Tremens	8,5
		Deus	11,5
4ª	Cervejas Ruivas	Affligem Dubbel	6,8
		Westmalle Dubbel	7
		Gavroche	8,5
5ª	Cerveja Preta	Erdinger Pikantus	7,3
6ª	Cerveja Preta	Wals Dubbel	7,5

Após a análise sensorial, os exemplares que restaram de cada cerveja foram submetidos a análises físico-químicas. Estas análises foram realizadas no Laboratório Central da Unicer, de acordo com os seus protocolos. As análises que foram efetuadas consistiram em determinar os Extratos primitivo, real e aparente, Atenuação real, Teor de álcool, Cor, pH (parâmetros estes medidos através de um só equipamento da marca Anton Paar), e Amargo.

## 4.2 2ª Etapa: Ensaios Laboratoriais

Durante esta fase foram realizados vários ensaios com diferentes tipos de cerveja, açúcar e levedura, nos quais o procedimento base era essencialmente o mesmo. Cada ensaio teve um objetivo em particular, assim sendo na Tabela 4 é possível observar os objetivos de cada ensaio e as respetivas matérias-primas utilizadas.

**Tabela 4.** Ensaios laboratoriais realizados, matérias-primas e respetivos objetivos

Ensaio	Cerveja base	Açúcares	Levedura	Objetivo
0.1	Cristal	Amarelo	US	Confirmar os cálculos realizados para a quantidade de açúcar e levedura a adicionar
1.1	SBSA	Mosto	US	Analisar a refermentação perante os açúcares do mosto
2.1	Urban Mix	Amarelo	WLP400	Analisar a refermentação perante uma levedura <i>ale</i>
3.1	Tigre	Amarelo	WLP400 (1ª Ferm.)	Analisar a refermentação perante a utilização da levedura que realizou a primeira fermentação
4.1	SAAZ	Amarelo	WLP400	Comparar a atividade da refermentação perante a utilização de diferentes leveduras e diferentes açúcares
4.2	SAAZ	Amarelo	Safbrew T-58	
4.3	SAAZ	Amarelo	Safbrew F2	
4.4	SAAZ	Mosto	Safbrew F2	
5.1	American Lager	Amarelo	Safbrew T-58	Comparar a atividade da refermentação perante a utilização de diferentes leveduras e diferentes açúcares
5.2	American Lager	Amarelo	WLP400	
5.3	American Lager	Amarelo	Safbrew F2	
5.4	American Lager	Mosto	Safbrew F2	
6.1	Tigre	Amarelo	WLP400	Analisar a refermentação numa cerveja base de trigo
7.1	Stout+Abadia	Amarelo	WLP400	Analisar a refermentação numa cerveja base preta

Tal como é possível observar pela Tabela 4, o primeiro ensaio (Bottle 0.1) tinha como objetivo a confirmação dos cálculos realizados (Anexo II), para a determinação da quantidade de açúcar e levedura a adicionar. O ensaio seguinte, o Bottle 1.1, serviu para verificar o comportamento da refermentação perante os açúcares e outros nutrientes presentes no mosto. Por sua vez, o ensaio

Bottle 2.1 teve o intuito de analisar o comportamento da refermentação perante uma levedura *ale*. O ensaio que se seguiu também tinha como objetivo de analisar o comportamento de uma levedura, no caso foi uma levedura *ale* que acabara de realizar a fermentação primária em cuba. Para tal, a cerveja foi retirada diretamente da cuba já com a levedura dissolvida, e por isso não foi possível controlar a quantidade inicial de levedura presente. Os ensaios Bottle 4.x foram realizados com o intuito de comparar o comportamento fermentativo perante dois tipos de açúcar (amarelo e mosto) e três tipos de levedura na mesma cerveja base, de forma a avaliar quais as matérias-primas que teriam uma melhor performance neste processo. Pelo facto de ter ocorrido contaminações nestes ensaios, efetuou-se a repetição desta série de maneira a cumprir os objetivos estipulados, porém os novos ensaios foram realizados com uma cerveja base diferente (a cerveja do ensaio 4.x não estava disponível no momento do ensaio). O ensaio Bottle 6.1 serviu para analisar a atividade de refermentação numa cerveja base de trigo e com uma levedura fresca (sem nenhuma fermentação). Por último, foi ainda realizado um ensaio que serviu para descobrir o perfil de uma cerveja refermentada preta, o Bottle 7.1. Neste ensaio, foi realizada uma receita baseada noutra já existente na empresa, sendo assim foi constituída por cerveja Super Bock, 30 % de Stout e 70 % Abadia.

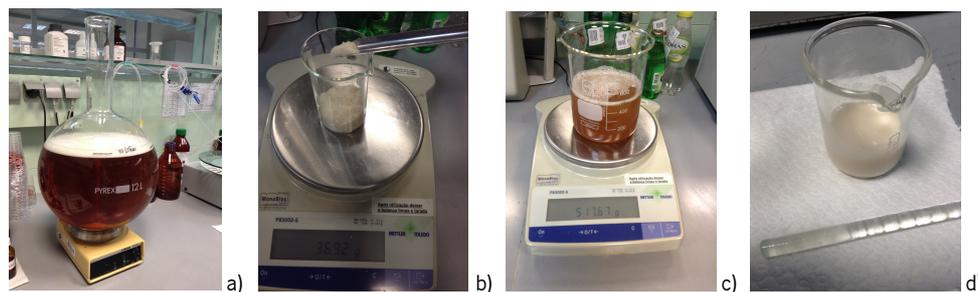
No que diz respeito às matérias-primas utilizadas nos ensaios (cerveja, açúcar e levedura), estas foram recolhidas de diferentes áreas da empresa. Os locais de origem das matérias-primas utilizadas encontram-se na Tabela 5.

**Tabela 5.** Matérias-primas utilizadas nos ensaios laboratoriais e respetivos locais de origem

	<b>Matéria-prima</b>	<b>Origem</b>
<b>Cerveja</b>	Cristal	Linha de Enchimento
	SBSA	Instalação Piloto
	Urban Mix	Instalação Piloto
	Tigre	Instalação Piloto
	SAAZ	Mini-Fábrica
	AML	Mini-Fábrica
	Stout/Abadia	Linha de Enchimento
<b>Açúcar</b>	Amarelo	Armazém da Mini-Fábrica
	Mosto	Adega
<b>Levedura</b>	US	Adega
	WLP400	Laboratório Central
	Safbrew T-58	Mercado
	Safbrew F2	Mercado

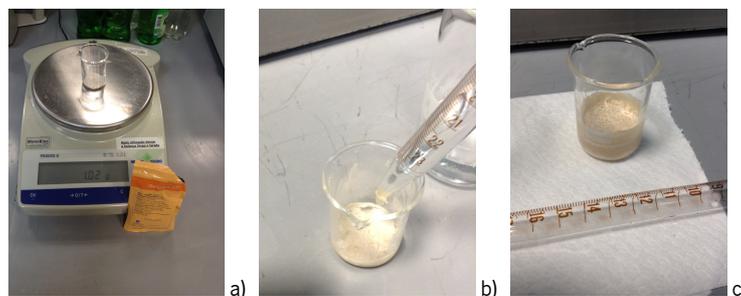
A cerveja veio das linhas de enchimento (produto já acabado), ou seja, já pasteurizada, de cubas da instalação piloto (IP) ou das cubas da mini-fábrica (MF). A cerveja proveniente destes dois últimos locais eram não pasteurizadas, com exceção do ensaio Bottle 5.x pois a cerveja utilizada (American Lager) foi transferida das cubas para barris, os quais foram pasteurizados antes da sua utilização. Quanto ao açúcar, o amarelo (Sidul, Portugal) veio do armazém da MF e o mosto da adega. As leveduras utilizadas foram recolhidas dos tanques da adega (US – levedura utilizada em cervejas *lager*), foram propagadas no laboratório central no caso das leveduras líquidas (WLP400 – levedura *ale*), e as duas leveduras secas, Safbrew T-58 e Safbrew F2 (ambas da Fermentis, França), foram recolhidas do mercado.

Em relação ao procedimento experimental, optou-se pelo método básico de refermentação (*priming*). Inicialmente recolheu-se a cerveja para um balão e colocava-se a agitar (Figura 8 a), com recurso a uma barra magnética e a uma placa de agitação. Seguiu-se a pesagem do açúcar ou do mosto e a sua adição (Figura 8 b e c), e deixou-se agitar até estar completamente dissolvido na cerveja. Logo depois, adicionou-se a levedura com recurso a uma pipeta graduada (Figura 8 d).



**Figura 8.** Procedimento dos ensaios laboratoriais: a) Cerveja em agitação, b) Pesagem do açúcar, c) Pesagem do mosto e d) Levedura.

No caso das leveduras secas foi necessária uma etapa prévia de reidratação, pois segundo a informação fornecida na embalagem, a levedura deveria ser espalhada em um volume de água estéril equivalente a dez vezes o seu próprio peso (Figura 9).



**Figura 9.** Procedimento dos ensaios laboratoriais: a) Pesagem da levedura, b) Adição de água pura e c) Período de repouso.

Assim, pesou-se 1 g de levedura seca (Figura 9 a) e adicionou-se 10 mL de água pura (Figura 9 b), deixando-se a repousar entre 15 min a 30 min, agitando gentilmente (Figura 9 c).

Logo após a adição da levedura, deixou-se a agitar até a levedura se dissolver na cerveja. O tempo total deste processo no qual a cerveja esteve continuamente sob agitação, foi sempre entre 45 min a 1 h, tempo no qual a bebida perdia uma boa quantidade de CO<sub>2</sub>. Findo este período experimental inicial, dava-se início ao enchimento (Figura 10 a e b), o qual foi realizado manualmente com recurso a um gobelé. As garrafas eram cheias em séries entre 4 a 6 garrafas, seguindo-se a colocação da cápsula através de um capsulador manual, e assim sucessivamente até terminar a cerveja (Figura 10 c).



**Figura 10.** Procedimento dos ensaios laboratoriais: a) e b) Enchimento e c) Colocação da cápsula.

Finalizada a etapa do enchimento, seguiram-se as etapas de identificação e armazenamento. A identificação (Figura 11 a), foi realizada através da colocação de etiquetas que indicavam o nome do projeto (“Projeto Bottle”), o nome do ensaio (ex.: “Ensaio 0.1”), a data do ensaio (ex.: “16 de Março de 2015”) e o nome do autor do ensaio (“Cátia Silva”). Posteriormente, seguiu-se o armazenamento (Figura 11 b) a uma temperatura entre 20 °C e 22 °C.



**Figura 11.** Procedimento dos ensaios laboratoriais: a) Identificação das garrafas e b) Armazenamento.

Posteriormente seguiu-se a análise sensorial, para a qual foram selecionados os ensaios que demonstraram melhores condições para serem apresentados a um painel de provadores oficiais da empresa. Esta seleção aconteceu, não só por existir uma quantidade elevada de ensaios, como também por terem ocorrido contaminações que tornaram certos produtos finais impossíveis de beber devido aos acentuados “*off flavours*”. Os ensaios levados a prova encontram-se na Tabela 6.

**Tabela 6.** Ensaios submetidos a prova sensorial

Ensaio		Ingredientes	
Bottle 0.1	Cristal	Açúcar Amarelo	US
Bottle 2.1	Urban Mix	Açúcar Amarelo	WLP400
Bottle 3.1	Tigre	Açúcar Amarelo	WLP400 (1ª Ferm.)
Bottle 5.1	AML	Açúcar Amarelo	Safbrew T-58
Bottle 6.1	Tigre	Açúcar Amarelo	WLP400
Bottle 7.1	Abadia+Stout	Açúcar Amarelo	WLP400

O principal objetivo desta prova consistiu em definir qual a cerveja base, o açúcar e a levedura que se iria utilizar na fase seguinte, a refermentação em escala piloto.

Por fim, foi ainda testada a pasteurização em dois dos ensaios realizados, o Bottle 6.1 e o Bottle 7.1. Para a pasteurização foram utilizados dois dos programas habitualmente usados na IP, estes encontram-se na Tabela 7.

**Tabela 7.** Programas de pasteurização utilizados nos ensaios Bottle 6.1 e Bottle 7.1 (UP – Unidade de Pasteurização)

20 UPs		80 UPs	
Temperatura (°C)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Tempo (min)
26	10	26	10
38	10	40	10
49	10	55	10
61	25	64	35
26	10	30	20
26	0	25	9999

Após a pasteurização os ensaios foram avaliados microbiologicamente e sensorialmente.

### 4.3 3ª Etapa: Ensaio Piloto

A terceira e última etapa consistiu no desenvolvimento de dois tipos de cerveja refermentada em garrafa padrão de champanhe (75 cL), em escala piloto. Posto isto, e após o contacto com a Murganheira e o seu interesse numa parceria neste estudo, ficou decidido desenvolver um produto pelo método *Champenoise*, e outro que iria passar pelo método comum de refermentação utilizado nos ensaios anteriores (*Priming*).

Com esta decisão inicial, e após as conclusões da segunda etapa, decidiu-se desenvolver uma cerveja que seria produzida desde o início na instalação piloto, tendo como método de refermentação aquele que foi utilizado até agora. Isto é, a refermentação ocorreria com a garrafa na posição vertical, a uma temperatura entre 20 °C e 22 °C, originando um produto final com levedura presente na garrafa. Para este produto, uma vez que seria um produto final com levedura optou-se pela cerveja de trigo, uma das preferidas na prova final da 2ª etapa.

Em relação ao produto que iria ser produzido pelo método *Champenoise*, foi decidido que seria utilizada uma cerveja *lager* sem turvação, pois como a levedura seria retirada tal como no champanhe, era importante ter um produto límpido com uma cor dourada. Posto isto, e considerando as conclusões da 2ª etapa, foi decidido que a cerveja indicada para este processo seria a Cristal, porém um pouco mais encorpada sendo que para tal foi utilizada Cristal concentrada. Para comparação entre os métodos de fermentação, este produto foi refermentado também em paralelo segundo as condições da refermentação dos ensaios da etapa anterior (garrafa na vertical e temperatura entre 20 °C e 22 °C).

Para esta fase foi ainda decidido que seria utilizado o açúcar amarelo, pois quando comparado com o mosto este não apresentou grande valor e ainda está presente o risco de contaminação microbiológica. Quanto à levedura de refermentação foi escolhida a WLP400, pois foi a que obteve melhor desempenho, produzindo cervejas sensorialmente agradáveis e fazendo o seu papel sem se observar um exagerado crescimento celular, o qual originaria uma enorme quantidade de depósito no fundo da garrafa.

### **A. Cerveja de Trigo**

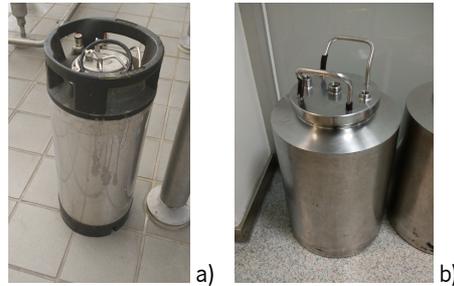
Esta cerveja do ensaio Bottle 10.1 foi produzida na IP, iniciando-se assim a produção da cerveja base que foi posteriormente refermentada na garrafa (Figura 12).



**Figura 12.** Procedimento do Bottle 10.1: a) Fabrico do mosto, b) Fermentação e maturação e c) Filtração.

Primeiramente ocorreu o fabrico do mosto com cerca de 30 % de trigo (Figura 12 a), seguiu-se a fermentação primária executada pela levedura WLP400 (Figura 12 b), a maturação e, por fim, a filtração da cerveja (Figura 12 c).

Uma vez finalizada a cerveja, seguiu-se a adição dos ingredientes necessários para a refermentação, o açúcar e a levedura (Figura 13).



**Figura 13.** Procedimento do Bottle 10.1: a) Tanqueta utilizada para a transferência do açúcar e b) Propagador de levedura.

O açúcar foi pesado num balde metálico, que foi previamente higienizado com água a 90 °C, e foi posteriormente dissolvido com água à mesma temperatura. Após a dissolução do açúcar, a mistura resultante foi introduzida numa tanqueta, a partir da qual com recurso a mangueiras ocorreu a transferência para a cuba. A tanqueta utilizada foi previamente desinfectada com oxónia, seguindo-se a passagem abundante de água desarejada.

A levedura foi propagada num propagador igual ao que aparece na Figura 13 b, e após a propagação terminar foi transferida para a cuba por meio de mangueiras esterilizadas, a quantidade aproximada àquela que havia sido calculada. Não foi possível adicionar a quantidade certa pois cada propagador tem cerca de 15 L, e como não havia forma de medir, avaliou-se a quantidade introduzida tendo em conta o peso do propagador.

Neste ensaio a levedura foi adicionada duas horas após a adição do açúcar, de forma a que este se dissolvesse na cerveja, após a introdução de ambos os ingredientes a cerveja foi agitada na cuba com recurso a CO<sub>2</sub>.

Posteriormente à adição dos ingredientes, seguiu-se o enchimento em garrafas 75 cL seladas com rolha de cortiça (com exceção de 20 garrafas que foram seladas com cápsula metálica por ser mais fácil para analisar o CO<sub>2</sub>) (Figura 14). As garrafas acabadas de sair da embalagem, recebem CO<sub>2</sub> (Figura 14 a) e seguem para as posições visíveis na imagem, de seguida a cerveja é introduzida na garrafa. O equipamento visível na Figura 14 b, é conectado através de tubagens à cuba que contém a cerveja. Após o enchimento terminar a garrafa segue para o equipamento seguinte, o qual insere a

rolha e depois o arame. Neste ensaio, houve a exceção de cerca de 20 garrafas, que seguiram após enchimento para o capsulador manual, visível na Figura 14 c.



**Figura 14.** Procedimento do Bottle 10.1: a) Introdução de CO<sub>2</sub>, b) Máquina de enchimento e do lado direito o equipamento que coloca rolha e arame e c) Capsulador manual.

Antes e durante o enchimento todos os materiais/ equipamentos em contacto com a cerveja foram desinfetados/esterilizados com álcool/água a 90 °C. O equipamento de enchimento passou por um CIP antes do momento de encher, o qual consistiu em fazer passar pelo equipamento:

1. água em abundância;
2. soda cáustica a 2 % (p/p) e a 80 °C durante 10 min;
3. água desarejada em abundância;
4. desinfetante à base de ácido paracético e peróxido de hidrogénio a 0,5 % (p/p) (comercializado pela Ecolab - P3 Oxónia) por 10 min;
5. água em abundância;
6. fez-se um teste colocando umas gotas de octanol para ver se o desinfetante já não se encontrava presente;
7. água a 90 °C;
8. água;
9. CO<sub>2</sub>.

As garrafas e as rolhas saíram da embalagem à medida que eram utilizadas e as cápsulas foram colocadas em álcool (aproximadamente a 70 %). Durante o processo de enchimento, adicionalmente todos os técnicos utilizaram luvas e máscaras. Analisando os resultados obtidos numa análise microbiológica, realizada a garrafas de 75 cL iguais às que foram utilizadas neste ensaio, conseguiu-se perceber que a melhor forma de as utilizar sem aumentar o risco de contaminação seria recolhê-las diretamente da embalagem no momento do enchimento.

Finalizado o enchimento, no qual resultaram cerca de 500 garrafas, estas foram identificadas e armazenadas a uma temperatura entre 20 °C e 22 °C, no armazém da Unicer (Figura 15).



**Figura 15.** Procedimento do Bottle 10.1: a) Identificação das garrafas do Bottle 10.1 e b) Armazenamento do ensaio.

O plano de amostragem para este ensaio consistiu nas seguintes análises que decorreram nos momentos demonstrados na Tabela 8.

**Tabela 8.** Análises realizadas no Bottle 10.1 e respetivos momentos de análise

Análises	Momento da análise				
	Cerveja antes de qualquer adição	Tempo zero (enchimento)	Acompanhamento diário	Final da refermentação	Após pasteurização
Extratos Primitivo, Aparente e Real, Atenuação, Álcool e pH (Equipamento do Anton Paar)	X	X	X	X	X
CO <sub>2</sub>		X	X	X	
Microbiologia (Nocivos/Não nocivos, Contagem de células e Percentagem de células mortas)	X*	X	X**	X	X***
Diacetilo	X		X	X	
Estabilidade de Espuma				X	
Amargo	X			X	
Álcoois/Ésteres		X		X	
SO <sub>2</sub>				X	
Análise sensorial (Avaliação e Estabilidade Organolética, Teste Triangular)				X	X

\* Apenas a análise de Nocivos/Não nocivos; \*\* A análise de Nocivos/Não nocivos apenas foi realizada uma vez por semana; \*\*\* Apenas foi realizada a análise de Nocivos/Não nocivos

As análises realizadas foram todas realizadas em duplicado, com exceção no momento de análise à cerveja antes de qualquer adição e no tempo zero, com o intuito de verificar se havia homogeneidade entre as garrafas.

Neste ensaio foi testada também a pasteurização, sendo que para tal o produto fresco foi submetido ao programa de 20 Unidades de Pasteurização (UPs) indicado para garrafas de 75 cL, descrito na tabela abaixo apresentada.

**Tabela 9.** Programa de pasteurização de 20 UPs utilizado nas garrafas 75 cL

Temperatura (°C)	Tempo (min)
26	10
38	10
49	10
63	25
26	10
26	0

Por fim, foram realizadas análises sensoriais ao produto final, nomeadamente uma avaliação organolética, um teste triangular e um teste de estabilidade organolética. A avaliação organolética foi realizada ao produto final fresco, enquanto no teste triangular foi apresentado o produto fresco e o produto pasteurizado. A estabilidade organolética também foi realizada ao produto fresco e ao produto pasteurizado.

## **B. Cerveja “Brut”**

O nome deste ensaio surgiu após uma pesquisa sobre as cervejas existentes no mercado que utilizam o método de produção de champanhe, porém para subdividir os ensaios realizados na produção deste produto o ensaio teve o nome genérico Bottle 11.x. Para o desenvolvimento deste tipo de cerveja, foi elaborado um esquema de forma a explicar as diferentes componentes do ensaio (Figura 16).

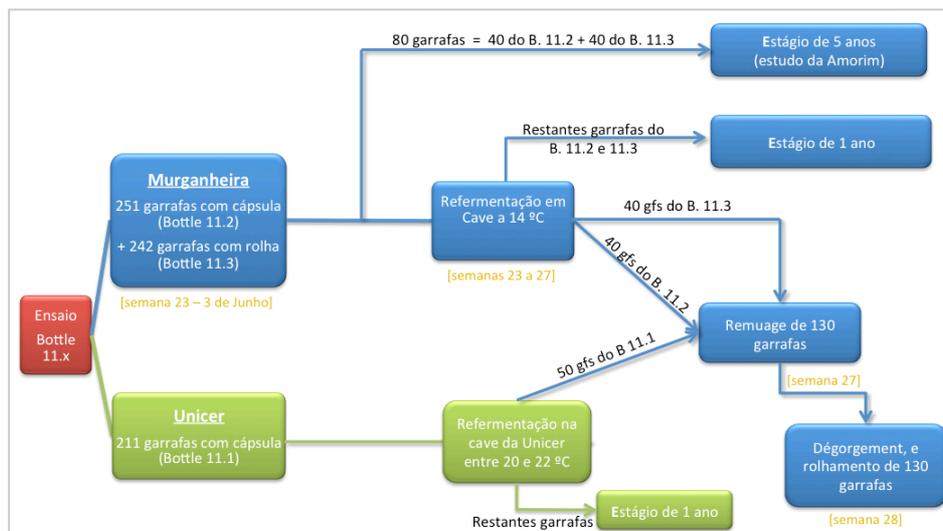
Segundo se pode observar na Figura 16, neste ensaio decidiu-se utilizar cerveja Cristal concentrada, a qual foi transferida para a IP, para o posterior enchimento. Foi decidido ainda que seria desenvolvida uma cerveja final através do método *Champenoise* (sem levedura), da qual uma parte passaria pelo período de refermentação na Unicer (temperatura entre 20 °C e 22 °C), e outra parte pelo período de refermentação nas caves da Murganheira (temperatura de 14 °C), seguindo-se as etapas finais de *remuage* e *dégorgement* na Murganheira. Foi ainda realizado um outro ensaio que tinha como objetivo

principal desenvolver um produto final com levedura, o qual passaria pelo método de refermentação utilizado nos ensaios da 2ª etapa (Bottle 11.4). Este ensaio serviu para avaliar a cerveja base neste tipo de refermentação, e o seu produto final.



**Figura 16.** Plano geral dos ensaios com a cerveja base *lager*.

Os ensaios realizados pelo método *Champenoise* estão exemplificados com mais detalhe na Figura 17.



**Figura 17.** Plano dos ensaios que envolvem o método *Champenoise*.

Para este método, além de ser estudado o local e consequentemente a temperatura durante o período de refermentação, foram ainda estudadas duas formas de selar as garrafas. Assim, das garrafas que foram enviadas para a Murganheira, uma parte fermentou com cápsula e obturador e outra parte fermentou com rolha. Este ensaio surgiu de uma parceria com a Amorim, após o seu interesse em testar uma rolha por eles fabricada especialmente para a etapa de refermentação do champanhé. Isto porque, se no método *Champenoise* onde as garrafas fermentam na horizontal, se utilizasse uma rolha comum esta passaria “*off flavours*” para o líquido com o qual está em contacto. Assim, a Amorim está

a estudar um novo protótipo que não confira características negativas ao produto. Posto isto, além do estudo realizado durante este projeto, a Amorim também quis realizar as suas próprias análises. Para tal, das garrafas que foram para a Murganheira foram recolhidas 40 de cada ensaio, de forma a comparar o produto fermentado com rolha com aquele que foi fermentado com cápsula.

O plano do desenvolvimento deste produto pelo método *Champenoise* foi estruturado para um ano, porém este projeto apenas acompanhou o produto até às quatro semanas de refermentação em garrafa, o restante acompanhamento ficou ao encargo da Unicer. Assim, uma parte das garrafas dos três ensaios após quatro semanas de refermentação iniciou o processo de *remuage* (as garrafas que estagiaram na Unicer foram transportadas para a Murganheira), e posteriormente a etapa de *dégorgement*, obtendo por fim o produto final.

Sendo assim, este ensaio com cerveja *lager* foi subdividido em quatro ensaios, sendo eles:

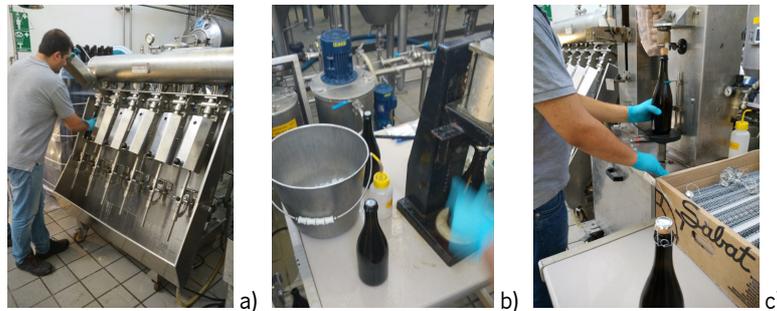
- Bottle 11.1: Refermentação na Unicer ( $20 < T (^{\circ}\text{C}) < 22$  e cápsula);
- Bottle 11.2: Refermentação na Murganheira ( $T (^{\circ}\text{C}) = 14$  e cápsula);
- Bottle 11.3: Refermentação na Murganheira ( $T (^{\circ}\text{C}) = 14$  e rolha);
- Bottle 11.4: Refermentação na Unicer pelo método utilizado nos ensaios da 2ª etapa.

Para a realização deste ensaio, foi utilizada como base a cerveja Cristal concentrada, a qual foi recolhida na adega, logo à saída da etapa de filtração. A cerveja foi recolhida para barris (retirados da linha após a etapa de CIP), os quais foram armazenados na câmara fria até à sua utilização.

Posteriormente, a cerveja foi transferida dos barris para uma cuba da IP, na qual foi realizada uma diluição para obter o extrato desejado (14,5 °P), seguindo-se a adição do açúcar e da levedura (Figura 13 a e b). O método de adição do açúcar e levedura foi igual ao procedimento utilizado no ensaio Bottle 10.1, descrito anteriormente. Aquando a transferência da cerveja para a cuba, todos os cuidados foram tidos em consideração, nomeadamente todos os materiais em contacto com a cerveja foram higienizados com água a 90 °C (ex.: tubagens) ou desinfectados com álcool (ex.: zona superior do barril). Uma vez que para o ensaio Bottle 11.4 a refermentação foi diferente, ou seja, a levedura não foi retirada e assim a garrafa só seria aberta no momento de degustação, a quantidade de CO<sub>2</sub> formada teria de ser menor do que aquela calculada para os ensaios realizados pelo método *Champenoise* (Bottle 11.1 a 11.3). Assim, este ensaio foi realizado numa segunda cuba, e as quantidades de açúcar e levedura adicionados foram menores.

A etapa de enchimento (Figura 18) decorreu com especial atenção aos cuidados referidos anteriormente no ensaio Bottle 10.1, isto é, durante esta etapa todos os materiais/equipamentos em

contacto com a cerveja foram desinfetados/esterilizados com álcool/água a 90 °C, as garrafas saíram da embalagem à medida que se ia enchendo, e os técnicos utilizaram luvas e máscaras. Adicionalmente neste enchimento, uma vez que para refermentar uma parte das garrafas foram seladas com um obturador e cápsula, a peça de plástico (que esteve em contacto direto com o líquido) foi colocada num banho de álcool (aproximadamente a 70 %).



**Figura 18.** Procedimento do Bottle 11.x: a) Máquina de enchimento, b) Recipiente com obturadores e capsulador automático (à direita) e c) Equipamento de colocação da rolha e arame.

O obturador foi colocado manualmente, seguindo-se a colocação automática da cápsula através do equipamento visível na Figura 18 b (à direita). Nos ensaios Bottle 11.3 e 11.4, as rolhas foram colocadas através do equipamento automático também utilizado no ensaio Bottle 10.1, visível na Figura 18 c.

Com a etapa do enchimento concluído, as garrafas foram identificadas e enviadas para os seus locais de refermentação (Bottle 11.1 e 11.4 no armazém da Unicer, Bottle 11.2 e 11.3 na Murganheira) (Figura 19).



**Figura 19.** Procedimento do Bottle 11.x: a) Bottle 11.1 armazenado na Unicer e b) Bottle 11.2 e Bottle 11.3 armazenados na Murganheira.

Após o período de refermentação ter sido concluído (4 semanas), iniciou-se a fase do *remuage*. Esta fase foi realizada pelo método tradicional nas prateleiras denominadas “*pupitres*”, porém em vez de demorar os tradicionais 17 dias, foi realizado em uma semana. Esta redução do tempo de *remuage* deveu-se ao facto da empresa encerrar completamente para férias, porém não houve interferência negativa no produto, sendo os próprios técnicos da Murganheira a aconselhar esta opção (também

optam por este método em alguns dos seus ensaios). Nos tradicionais 17 dias de *remuage* as garrafas são rodadas um quarto de volta diariamente, elevando a cada movimento a sua posição, até que por fim se encontra na posição vertical. Para este projeto, as garrafas foram rodadas durante 7 dias a cada duas horas, havendo assim mais rotações diárias. Findo este período, as garrafas repousaram um dia, e posteriormente seguiu-se a etapa de *dégorgement*.

Na etapa de *dégorgement* a levedura foi congelada junto ao obturador e à rolha, no caso do Bottle 11.3. A remoção da cápsula e da rolha foi realizada manualmente, a porção congelada saiu sobre pressão, e o técnico fez espumar um pouco a cerveja, seguindo-se a colocação imediata da rolha nas garrafas. O facto de fazer a cerveja espumar serviu para que não houvesse incorporação de oxigénio, e ainda para diminuir o risco de contaminação.

O plano de amostragem deste ensaio, consistiu num conjunto de análises semelhantes ao ensaio Bottle 10.1, as quais decorreram nos respetivos momentos demonstrados na Tabela 10.

**Tabela 10.** Análises realizadas no Bottle 11.x e respetivos momentos de análise

Análises	Momento da análise					
	Cerveja antes de qualquer adição	Tempo zero (enchimento)	Acompanhamento diário	Final da refermentação	Produto final (sem levedura)	Após pasteurização
Extratos Primitivo, Aparente e Real, Atenuação, Álcool e pH (Equipamento do Anton Paar)	X	X	X	X	X	X
CO <sub>2</sub>		X	X <sup>***</sup>	X <sup>***</sup>	X	
Microbiologia (Nocivos/Não nocivos, Contagem de células e Percentagem de células mortas)	X <sup>*</sup>	X	X <sup>**</sup>	X	X	X <sup>****</sup>
Diacetilo	X		X	X	X	

**Tabela 10.** Análises realizadas no Bottle 11.x e respetivos momentos de análise (continuação)

Análises	Momento da análise					
	Cerveja antes de qualquer adição	Tempo zero (enchimento)	Acompanhamento diário	Final da refermentação	Produto final (sem levedura)	Após pasteurização
Estabilidade de Espuma					X	
Amargo	X			X	X	
Álcoois/Ésteres		X		X	X	
SO <sub>2</sub>				X	X	
Turvação a 20 °C					X	
Turvação Total					X	
Análise sensorial (Avaliação e Estabilidade Organolética, Teste Triangular)					X	X

\* Apenas a análise de Nocivos/Não nocivos; \*\* A análise de Nocivos/Não nocivos apenas foi realizada uma vez por semana; \*\*\* Não foi realizada a medição do CO<sub>2</sub> do ensaio Bottle 11.3; \*\*\*\* Apenas foi realizada a análise de Nocivos/Não nocivos

Uma vez que o ensaio Bottle 11.4 não envolveu a retirada de levedura, o momento de análise “Produto final (sem levedura)” e as análises de turvação não fizeram parte do seu plano de amostragem. Outra análise a que este ensaio também não foi submetido foi a análise sensorial, apenas foi realizada uma pequena prova para averiguar o produto.

Relativamente à pasteurização, esta foi analisada no ensaio Bottle 11.1 (análise no equipamento do Anton Paar, análise microbiológica, análise sensorial), Bottle 11.3 (análise sensorial) e no Bottle 11.4 (análise no equipamento do Anton Paar, análise microbiológica).

No presente ensaio foi testada a pasteurização no programa de 20 UPs apropriado para garrafas 75 cL, para os ensaios Bottle 11.1, 11.3 e 11.4.

Por último, foram realizadas análises sensoriais ao produto final, nomeadamente uma avaliação organolética, um teste triangular e um teste de estabilidade organolética. Ambas as análises foram realizadas de acordo com os métodos de análise descritos numa secção anterior. A avaliação organolética foi efetuada ao produto fresco dos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3. Por sua vez, no teste

triangular além do produto fresco apresentou-se o produto pasteurizado, porém apenas do ensaio Bottle 11.1 pois pretendia-se esclarecer se a pasteurização era notória. A estabilidade organolética foi realizada com os produtos frescos do Bottle 11.1 ao 11.3, e produtos pasteurizados do Bottle 11.1 e 11.3.



## 5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

### 5.1 1ª Etapa: Caracterização das cervejas do mercado fermentadas na garrafa

Após a reunião dos produtos que iriam ser analisados, foi realizada uma lista dos mesmos com as suas principais características (Tabela 11).

**Tabela 11.** Cervejas fermentadas na garrafa existentes no mercado, e respectivas características principais

	Nome	Origem	Cor	Álcool (%)	Ingredientes
1	Estrella Damm Inedit	Espanha	Branca	4,8	Água, Malte de cevada, trigo, açúcar, levedura, especiarias, antioxidante: ácido ascórbico.
2	Diabolici	Bélgica	Loira	8	Água, Malte de cevada, milho, lúpulo.
3	Duvel Strong Ale	Bélgica	Dourada	8,5	Água, malte de cevada (duplo malte), lúpulo, levedura, glicose. Contém glúten.
4	Affligem blond	Bélgica	Loira	6,8	Água, malte de cevada, açúcar, lúpulo e levedura.
5	Augustijn	Bélgica	Loira	7	—
6	Deus	Bélgica	Loira	11,5	Água, malte de cevada, lúpulo, levedura. Passa pelo processo de <i>remuage</i> e <i>dégorgement</i> .
7	Gavroche	França	Vermelha	8,5	Malte de cevada
8	Orval Trappist Ale	Bélgica	Amber	6,2	Água, Malte de cevada, lúpulo, açúcar, açúcar de doces ( <i>candy sugar</i> ), levedura.
9	Westmalle Dubbel	Bélgica	Vermelha escura	7	Malte de cevada e lúpulo
10	Affligem Dubbel	Bélgica	Vermelha/Castanha	6,8	Malte de cevada
11	Delirium tremens	Bélgica	Dourada	8,5	Água, malte de cevada, lúpulo e levedura. Tripla fermentação.
12	Barbär	Bélgica	Loira	8	Água, malte de cevada, trigo, mel, açúcar, lúpulo, coentros, curaço (tipo de laranja) e levedura.
13	Erdinger Weissbier	Alemanha	Dourada	5,3	Água, maltes de cerveja e de trigo, lúpulo e levedura.
14	Erdinger Pikantus	Alemanha	Preta	7,3	Água, maltes de cevada e de trigo, malte tostado, lúpulo e levedura.
15	Saison 1858	Bélgica	Loira	6,4	Água, malte de cevada, lúpulo e levedura.
16	Wals Dubbel	Brasil	Castanha	7,5	Cinco tipos de malte, leveduras e lúpulos especiais, uvas passas e especiarias.

Com esta lista foi possível organizar os produtos de forma a que as cervejas mais fortes não afetassem o palato, e assim, induzir em erro o provador aquando a prova de cervejas mais fracas. As séries foram apresentadas de acordo com o tipo de cerveja e do menor para o maior teor alcoólico, tal como foi apresentado na Tabela 3, apresentada na secção 4.1.

A realização da análise sensorial permitiu reunir os resultados apresentados nas seguintes tabelas. A série 1 foi composta por cervejas de trigo, tendo sido apresentadas do menor para o maior teor de álcool. Os resultados desta série estão apresentados na Tabela 12, na qual se observa a percentagem da preferência por cada cerveja nas diferentes categorias, a avaliação global da mesma, e ainda alguns comentários relativos à cor, sabor e aroma, conferidos pelos provadores (defeitos, características).

**Tabela 12.** Principais resultados da série 1 apresentada na análise sensorial

Nome da amostra	Estrella Damm Inedit	Barbãr	Erdinger Weissbier
<b>Cor/ Aparência</b>	Dourada, Agradável	Limpida; s/ turvação, s/cor de trigo	Turva e demasiado clara
<b>Preferência de cor (%)</b>	37,5	25	37,5
<b>Aroma</b>	Fresco, floral; aroma caprilico	Aroma a mel; madeira/porto, pouco notório, metálico	Fresco e frutado; pouco presente, oxidada
<b>Preferência de aroma (%)</b>	62,5	12,5	25
<b>Sabor</b>	Agradável, especiarias; enjoativa	Forte, oxidada, ácida, muito doce	Sabor frutado e fácil de beber; s/sabor distinto
<b>Preferência de sabor (%)</b>	50	-	50
<b>Preferência Global (%)</b>	50	-	50
<b>Avaliação Global</b>	- 0,5	- 1,1	- 0,1

Analisando a Tabela 12 é possível observar que tanto a Estrella Damm Inedit como a Erdinger Weissbier obtiveram melhores resultados em todos os parâmetros (cor, aroma e sabor), aliando ainda o facto de ambas as cervejas terem obtido valores satisfatórios na sua avaliação global. Foi possível verificar assim, que de uma forma geral este tipo de cerveja agradou o público em geral.

Seguiu-se a série 2, a qual era composta por cervejas loiras/brancas. Uma vez que a quantidade destas cervejas era elevada, optou-se por dividir em duas séries (2 e 3). Os resultados da série 2

encontram-se na Tabela 13.

**Tabela 13.** Principais resultados da série 2 apresentada na análise sensorial

<b>Nome da amostra</b>	<b>Orval Trappist Ale</b>	<b>Saison 1858</b>	<b>Affligem blond</b>	<b>Augustijn</b>
<b>Cor/ Aparência</b>	Muito escura, turva, muito intensa	Muito clara, turva	Mais límpida	Ligeiramente turva
<b>Preferência de cor (%)</b>	30	-	30	40
<b>Aroma</b>	Caramelo; desagradável, oxidada	Frutada, especiarias; ligeiramente oxidada	Aroma a especiarias, doce; mau	Fósforo, solvente
<b>Preferência de aroma (%)</b>	22,2	55,6	11,1	11,1
<b>Sabor</b>	Agradável; oxidada, adstringente, amargo	Agradável, fresca; metálica e adstringente	Fresca; tabaco, ácida, metálica muito doce	Agradável, especiarias; forte, fenólico, ácida;
<b>Preferência de sabor (%)</b>	22,2	11,1	33,3	33,3
<b>Preferência Global (%)</b>	11,1	33,3	22,2	33,3
<b>Avaliação Global</b>	- 1,3	- 0,3	- 0,8	- 0,9

Como é possível observar através da Tabela 13, a cerveja Augustijn foi a que obteve melhores resultados no conjunto de todos os fatores (cor, aroma e sabor). Ainda que a Saison 1858 tenha tido elevada preferência no aroma, e tenha tido um resultado igual à Augustijn na preferência global, o seu sabor ou mesmo a cor não foram suficientemente satisfatórios. Como conclusão desta série, constatou-se que a Augustijn fez-se notar em todos os parâmetros e obteve ainda uma avaliação global satisfatória.

Posteriormente veio a série 3, composta também por cervejas loiras/brancas porém com teores de álcool mais elevados. Os resultados estão apresentados na Tabela 14. Através desta série verificou-se que as cervejas Delirium Tremens e Deus, foram aquelas que se fizeram notar em todos os parâmetros, sendo ainda classificadas como as preferidas entre as quatro cervejas apresentadas. A Delirium Tremens teve um melhor desempenho a nível de aroma e sabor, enquanto a Deus, por sua

vez, teve melhor resultado na cor e no sabor. Ambas as cervejas tiveram uma avaliação global satisfatória.

**Tabela 14.** Principais resultados da série 3 apresentada na análise sensorial

Nome da amostra	Diabolici	Duvel Strong Ale	Delirium tremens	Deus
<b>Cor/ Aparência</b>		Turva		Ligeiramente turva
<b>Preferência de cor (%)</b>	62,5	-	12,5	25
<b>Aroma</b>	Fresca, bom lúpulo	Cítrico, bom lúpulo; couves, fenólica	Especiarias/floral; doninha, fenólico	Cítrico; fenólico, fresco
<b>Preferência de aroma (%)</b>	40	20	30	10
<b>Sabor</b>	Desilude, amargo, oxidada	Agradável, Amarga, adstringente	Mais suave, floral; amargo, metálico	Doce, agradável, limão; muito alcoólica
<b>Preferência de sabor (%)</b>	10	30	30	30
<b>Preferência Global (%)</b>	14,3	14,3	42,8	28,6
<b>Avaliação Global</b>	- 1,0	- 0,6	- 0,6	- 0,9

A série seguinte, a 4, diz respeito às cervejas ruivas, sendo que os resultados obtidos na análise sensorial podem ser observados na Tabela 15.

**Tabela 15.** Principais resultados da série 4 apresentada na análise sensorial

Nome da amostra	Affligem Dubbel	Westmalle Dubbel	Gavroche
<b>Cor/ Aparência</b>	Cor agradável	Cor escura	Clara, aguada
<b>Preferência de cor (%)</b>	55,6	-	44,4
<b>Aroma</b>	Caramelo; amargo, caprílico	Caramelo; sem aroma, amargo	Ovos cozidos, queijo, caprílico
<b>Preferência de aroma (%)</b>	62,5	37,5	-
<b>Sabor</b>	Doce e suave, agradável; amarga, ácida	Equilibrado; amarga	Amargo, ácida
<b>Preferência de sabor (%)</b>	33,3	66,7	-

**Tabela 15.** Principais resultados da série 4 apresentada na análises sensorial (continuação)

Nome da amostra	Affligem Dubbel	Westmalle Dubbel	Gavroche
<b>Preferência Global (1) (%)</b>	28,6	71,4	-
<b>Avaliação Global (2)</b>	- 1,0	- 0,7	- 1,3

A Tabela 15 revela que este tipo de cervejas não agradou de forma geral, destacando-se a Gavroche pela negativa, na qual a única característica positiva foi a cor. Por outro lado, a que teve uma melhor performance foi a Westmalle Dubbel, obtendo especial favoritismo no sabor. Esta cerveja conseguiu ainda reunir a maioria na preferência global, e foi o único produto a obter uma avaliação global satisfatória.

Por fim, as séries 5 e 6 dizem respeito às cervejas pretas, sendo que o motivo pelo qual estão separadas está relacionado com o facto de o produto apresentado na série 6 ter chegado após a data da prova sensorial, e tendo por isso um painel de provadores diferente. Os resultados de ambas as séries encontram-se na Tabela 16.

**Tabela 16.** Principais resultados das séries 5 e 6 apresentadas na análise sensorial

Séries	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>
<b>Nome da amostra</b>	Erdinger Pikantus	Wals Dubbel
<b>Cor/ Aroma/ Sabor</b>	Equilibrada, lúpulo agradável, aroma e sabor agradável, cor bonita, notas de caramelo, doce; Ácida	Agradável, caramelo, refrescante, equilibrada; cor escura e estranha, turva, ligeiramente aguada
<b>Avaliação Global</b>	0	0,2

Ambas as cervejas pretas obtiveram uma performance muito positiva, sendo caracterizadas como agradáveis e equilibradas. Em relação à avaliação global, as duas cervejas tiveram resultados satisfatórios.

Posteriormente, com os exemplares de cada produto que restaram da análise sensorial procedeu-se à realização das análises físico-químicas. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 17. Mediante os resultados obtidos, foi possível verificar que de um modo geral as cervejas apresentam extratos primitivos desde 11 °P até 23 °P, unidades de amargor entre 9 UA e 27 UA, e teores de álcool desde 4,6 % v/v até 11,5 % v/v. Estes dados demonstram que o mercado oferece cervejas refermentadas na

garrafa com as mais diversas características. Recorrendo aos resultados físico-químicos, é também possível observar que as cervejas preferidas na análise sensorial (Estrella Damm Inedit, Erdinger Weissbier, Augustijn, Delirium tremens, Deus), apresentam colorações claras e valores de amargo reduzidos.

**Tabela 17.** Resultados obtidos nas análises físico-químicas

Série	Nome da amostra	Extrato primitivo (°P)	Álcool (%(v/v))	Atenuação real (%)	Cor (EBC)	Amargor (UA)
1 <sup>a</sup>	Estrella Damm Inedit	11,17	4,62	64	7,5	11
	Barbär	(sem amostra)				
	Erdinger Weissbier	12,51	5,36	66	11,8	9
2 <sup>a</sup>	Orval Trappist Ale	(sem amostra)				
	Saison 1858	14,17	6,52	71	7,3	20
	Affligem blond	15,22	6,91	70	12,5	19
	Augustijn	16,70	7,99	73	13,7	13
3 <sup>a</sup>	Diabolici	17,75	8,34	71	11,7	21
	Duvel Strong Ale	16,54	8,14	75	5,6	27
	Delirium tremens	(sem amostra)				
	Deus	23,21	11,53	73	8,5	10
4 <sup>a</sup>	Affligem Dubbel	(sem amostra)				
	Westmalle Dubbel	(sem amostra)				
	Gavroche	(sem amostra)				
5 <sup>a</sup>	Erdinger Pikantus	16,4	6,92	64	68,6	10
6 <sup>a</sup>	Wals Dubbel	(sem amostra)				

A principal conclusão a retirar desta primeira etapa está relacionada com a diversa variedade de produtos que o mercado das cervejas re-fermentadas na garrafa apresenta, com as mais diversas características. Aliando os resultados sensoriais com os resultados físico-químicos foi possível perceber que no próximo passo deveria ter-se em consideração a preferência por cervejas pouco amargas e de cor clara (loiras), sendo ainda que também pelas pretas, ainda que poucas, foi demonstrada uma elevada agradabilidade.

## 5.2 2<sup>a</sup> Etapa: Ensaio Laboratoriais

Nesta etapa, os ensaios realizados foram acompanhados ao longo do tempo de refermentação através das análises de CO<sub>2</sub>, diacetilo, contagem das células, extratos primitivo, aparente e real, atenuação

real, álcool e pH. Através dos resultados obtidos foi possível verificar que a refermentação na garrafa chegava ao fim quando se observava que o extrato aparente deixava de reduzir e o diacetilo se encontrava com um valor aceitável. Este processo demorava geralmente cerca de duas semanas. Após o período de refermentação terminar eram realizadas análises mais completas ao produto final, ou seja, além das análises de acompanhamento diário, eram ainda realizadas as seguintes análises: amargo, estabilidade de espuma e análise microbiológica (microrganismos nocivos e não nocivos para a cerveja).

De forma a otimizar a análise dos ensaios, de maneira a não juntar muitas amostras no mesmo intervalo de tempo no laboratório, pois este já tem as amostras de acompanhamento diário da produção, foi realizado um plano de amostragem (Figura 20).

Abril					
Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	
		1	2	3	
6	7	8	9	10 Bottle 5.1 (I);	Semana 15
13 Bottle 5.1; Bottle 5.2 (I);	14 Bottle 5.3 (I);	15 Bottle 5.1; Bottle 5.2; Bottle 5.4 (I); Bottle 6.1 (I)	16 Bottle 5.3; Bottle 5.4; Base 5.x	17 Bottle 6.1; Bottle 5.1; Bottle 5.2	Semana 16
20 Bottle 5.1; Bottle 5.3; Bottle 5.4; Bottle 7.1 (I)	21 DAY OUT	22 Bottle 5.2; Bottle 5.3; Bottle 5.4; Bottle 6.1	23 Bottle 5.1 (sem CO <sub>2</sub> ); Bottle 5.2; Bottle 7.1	24 Bottle 5.3; Bottle 6.1	Semana 17
27 Bottle 5.1 (F); Bottle 7.1	28 Bottle 5.4; Bottle 6.1;	29 Bottle 5.3 (F); Bottle 7.1;	30 Formação Lean		Semana 18

**Figura 20.** Plano de amostragem para o mês de Abril.

Através da Figura 20 é possível observar os dias úteis durante o mês de Abril de 2015, e os respetivos ensaios que iriam entrar em cada dia no laboratório.

Os resultados obtidos através das análises físico-químicas realizadas aos produtos finais de cada ensaio, podem ser observados na Tabela 18. Nesta tabela não foram apresentados os resultados dos produtos do ensaio Bottle 4.x, isto porque se verificou que estes ensaios estavam contaminados. Esta conclusão foi possível através das análises de diacetilo que revelaram um incremento anormal em vez do comportamento esperado, isto é, um aumento inicial seguido de uma descida até obter um valor abaixo de do limite estipulado. Outro fator que contribuiu ainda para esta conclusão, foi a análise sensorial, pois a cerveja apresentava aromas fortemente negativos (Kunze, 2004c).

**Tabela 18.** Parâmetros físico-químicos analisados nas cervejas finais dos ensaios Bottle

<b>Análises</b>	<b>Bottle 0.1</b>	<b>Bottle 1.1</b>	<b>Bottle 2.1</b>	<b>Bottle 3.1</b>	<b>Bottle 5.1</b>	<b>Bottle 5.2</b>	<b>Bottle 5.3</b>	<b>Bottle 5.4</b>	<b>Bottle 6.1</b>	<b>Bottle 7.1</b>
<b>Extrato</b>										
<b>Primitivo (°Plato)</b>	10,97	12,3	13,67	14,87	13,26	13,27	13,27	12,79	14,72	14,48
<b>Álcool (% v/v)</b>	5,07	4,97	7,36	6,81	6,13	6,14	6,05	5,70	6,77	6,37
<b>Atenuação Real (%)</b>	71,12	62,59	82,82	70,12	71,33	71,34	70,41	68,97	70,52	67,5
<b>pH</b>	4,20	4,23	4,42	4,31	4,21	4,03	4,23	4,20	4,27	4,37
<b>Coloração (EBC)</b>	9,6	7,7	12,2	9,6	10,8	9,3	9,6	10,8	9,1	75,2
<b>CO<sub>2</sub> (g/L)</b>	3,56	4,86	5,24	5,25	5,81	6,00	5,24	4,86	5,17	5,74
<b>Contagem de células (10<sup>6</sup>/mL)</b>	1,502	6,782	1,710	21,186	4,318	3,412	7,703	11,209	1,338	2,761
<b>Espumas (s)</b>	300	235	236	174	184	243	221	273	180	226
<b>Amargo (UA)</b>	16	9	10	12	14	15	15	17	11	13

Analisando o extrato primitivo, pode observar-se que as cervejas refermentadas tiveram valores entre 11 °Plato e 15 °Plato, enquanto o teor de álcool variou entre 4,97 % v/v e 7,36 % v/v. Em relação ao pH obtido nos produtos finais, este esteve entre 4,03 e 4,42, sendo que apenas o ensaio com o pH de 4,03 se encontra abaixo do pH recomendado pela literatura como sendo ótimo (entre 4,2 e 4,3) (Kunze, 2004c).

No que diz respeito à coloração, foi possível comprovar através dos resultados obtidos que todas as cervejas estudadas são brancas, à exceção do último ensaio (Bottle 7.1) (Kunze, 2004c).

Relativamente ao teor de CO<sub>2</sub>, foi idealizado que as cervejas finais teriam cerca de 5,2 g/L, e observando a Tabela 18 verifica-se que os resultados mostram que este parâmetro variou entre 3,56 g/l e 6,00 g/L. Este valor mais reduzido, obtido no ensaio Bottle 0.1, deve-se ao facto de ter sido considerado um valor de CO<sub>2</sub> inicial da cerveja base elevado, pois o objetivo era confirmar os cálculos e pretendia-se evitar que as garrafas obtivessem valores finais que constituiriam um perigo para quem as manuseasse. Em relação aos restantes ensaios, um dos motivos apontados para os diferentes valores de CO<sub>2</sub> foi o difícil controlo da concentração de CO<sub>2</sub> presente na cerveja base, ou seja, observou-se que a cerveja estando a uma temperatura mais reduzida perdia uma menor quantidade de CO<sub>2</sub> durante a

agitação. Outros motivos são a quantidade de açúcares fermentescíveis ainda presentes na cerveja base, o comportamento da levedura consoante a quantidade de açúcares presente, e ainda, devido ao facto de nos primeiros ensaios (até ao Bottle 3.1), não ser considerado que o açúcar amarelo tem aproximadamente 93 % de sacarose e não 100 % (nos ensaios seguintes fez-se os cálculos para 100 % de sacarose).

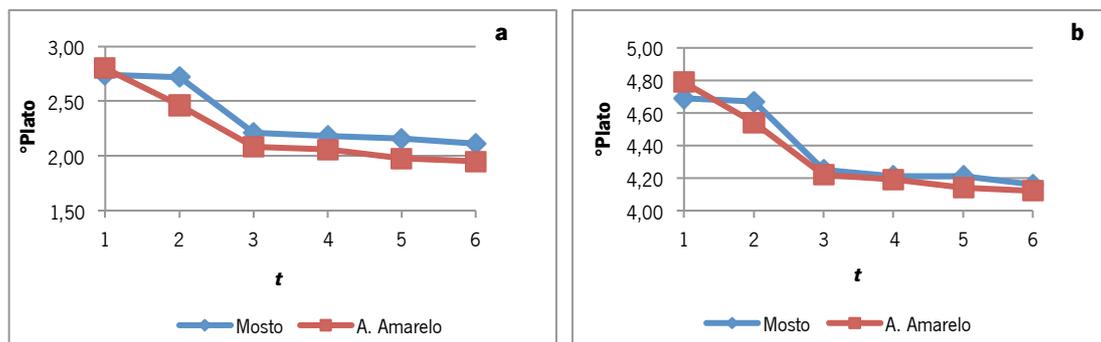
Em relação ao crescimento celular, foram observadas variações relacionadas com o tipo de levedura utilizada e também a sua quantidade inicialmente presente. Verificou-se que a levedura US depositava logo inicialmente no fundo da garrafa, sendo difícil voltar a suspendê-la, daí ter sido descartada logo inicialmente. Pelo lado positivo, observou-se que a levedura WLP400 não tinha um crescimento elevado e apesar de também sedimentar no fundo da garrafa, era mais fácil voltar a suspendê-la. Os resultados relativos à contagem celular do Bottle 3.1 (que utilizou a WLP400) são mais elevados, pois neste ensaio em vez de se introduzir uma nova levedura para refermentar utilizou-se a que já estava presente na primeira fermentação, não sendo assim possível controlar a sua quantidade inicial. Por este motivo para ensaios futuros teve-se em consideração a filtração da cerveja base, pois facilita o controlo da quantidade de levedura e conseqüentemente o depósito no produto acabado. Quanto às leveduras Safbrew T-58 e Safbrew F2, estas não acrescentaram valor a nível sensorial e foi observado um crescimento elevado. Porém os resultados relativos a estas leveduras estão comprometidos e não são conclusivos, isto porque apesar de ter sido repetido o ensaio Bottle 4.x, nos novos ensaios as cervejas produzidas também apresentaram indícios de contaminação, à exceção do Bottle 5.1.

No que concerne às espumas das cervejas em estudo, estas apresentaram uma tendência para melhoria durante a fermentação na garrafa. Porém, observou-se que três ensaios obtiveram valores considerados maus, nomeadamente o Bottle 3.1, 5.1 e o 6.1, por outro lado, o ensaio Bottle 0.1 teve um resultado muito bom.

Por último, quanto ao amargor dos produtos finais, verificou-se que este parâmetro após a fermentação na garrafa aumentou sempre uma unidade, apresentando por fim resultados relativamente baixos quando comparados com a gama de valores encontrada tipicamente nas cervejas (1 a 100 UA) (Brynildson, 2011).

Através dos ensaios realizados foi ainda possível comparar o desempenho do açúcar amarelo com o do mosto, nomeadamente nos ensaios Bottle 5.3 e Bottle 5.4, respetivamente. Na Figura 21 podem ser observadas as comparações entre os resultados obtidos através da análise ao longo do tempo de refermentação (valores 1 a 6 representam a evolução do tempo, não foi possível colocar as datas das

análises pois os ensaios eram analisados por vezes com um dia de diferença), para os extratos aparente e real, dos ensaios Bottle 5.3 (açúcar amarelo) e Bottle 5.4 (mosto).



**Figura 21.** Comparação entre os resultados obtidos, através da análise ao longo do tempo de refermentação, para o extrato aparente (a) e o extrato real (b), dos ensaios Bottle 5.3 (açúcar amarelo) e Bottle 5.4 (mosto).

Analisando os resultados obtidos observa-se que o açúcar amarelo apresentou uma maior redução dos extratos aparente e real, revelando assim um melhor desempenho. Porém, como foi referido anteriormente, os ensaios revelaram indícios de contaminação, colocando assim em causa a veracidade dos resultados obtidos.

Posteriormente seguiu-se a análise sensorial, os resultados obtidos para as cervejas selecionadas para a prova, encontram-se na Tabela 19.

**Tabela 19.** Avaliação sensorial dos ensaios selecionados para serem submetidos a prova

Bottle	Ingredientes	Aroma/Gosto	Avaliação Global
0.1	Cristal Açúcar Amarelo	US Fácil de beber, bom aroma, agradável; Aguada, falta CO <sub>2</sub> , nota-se pouco que é refermentada.	- 0,5 Satisfatório
2.1	Urban Mix Açúcar Amarelo	WLP400 Ácida, "vínica", adstringente	- 1,5 Não Satisfatório
3.1	Tigre Açúcar Amarelo	WLP400 (1ª Ferm.) Agradável, aroma a Weiss (cerveja de trigo), bom aroma, muito fresca; adstringente.	0,2 Satisfatório
5.1	AML Açúcar Amarelo	Safbrew T-58 Aroma a lúpulo, equilibrada; ligeiramente ácida, aroma desagradável, "vínica", ligeira oxidação.	- 2,2 Não Satisfatório
6.1	Tigre Açúcar Amarelo	WLP400 Weiss (aroma), bom sabor, agradável; não tem turvação, ligeiramente ácida	- 0,3 Satisfatório
7.1	Abadia + Stout Açúcar Amarelo	WLP400 Bom aroma, boa espuma; Devia ter mais corpo, pouco fresca, não evidencia a refermentação em garrafa.	- 0,7 Satisfatório

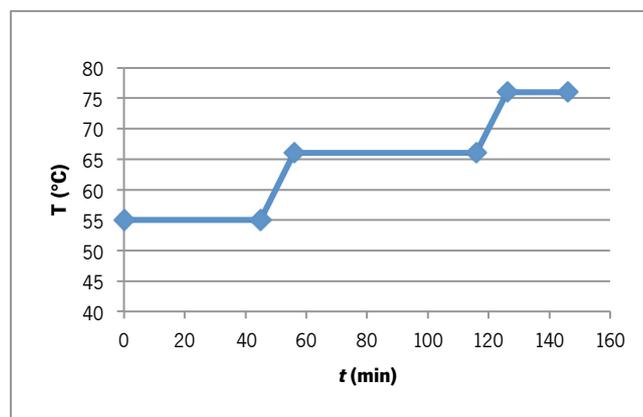
Fazendo uma análise à Tabela 19, verificou-se que apenas dois produtos finais não agradaram os provadores em geral, o que se deveu ao facto de apresentarem "off-flavours" desagradáveis, levando a concluir que possivelmente a cerveja estaria contaminada. Todos os restantes produtos finais tiveram uma avaliação satisfatória, porém tendo em conta as avaliações e as observações dos provadores, chegou-se à conclusão que as cervejas com maior preferência foram as que tiveram como base uma cerveja de trigo e a cerveja Cristal (Pilsener).

Por fim, foi ainda testada a pasteurização em dois dos ensaios realizados, o Bottle 6.1 e o Bottle 7.1. Para ambos os ensaios, e em ambos os programas utilizados, a contagem de células foi nula. As cervejas foram ainda testadas sensorialmente numa pequena prova, antes e após a pasteurização, sendo que como resultado não foram observadas diferenças significativas que indicassem a pasteurização do produto. Consequentemente, concluiu-se que a pasteurização é uma medida preventiva que deve ser tida em consideração, e nesse caso, é suficiente a utilização do programa de menor gama de temperaturas (20 UPs).

### 5.3 3ª Etapa: Ensaio Piloto

#### A. Cerveja de trigo

A produção da cerveja de trigo, que foi posteriormente refermentada na garrafa, correu dentro da normalidade. A etapa do fabrico do mosto correu como o esperado, sendo este produzido com cerca de 30 % de trigo. O gráfico da Figura 22 demonstra a etapa da brassagem, e as diferentes gamas de temperaturas aplicadas em certos intervalos de tempo.

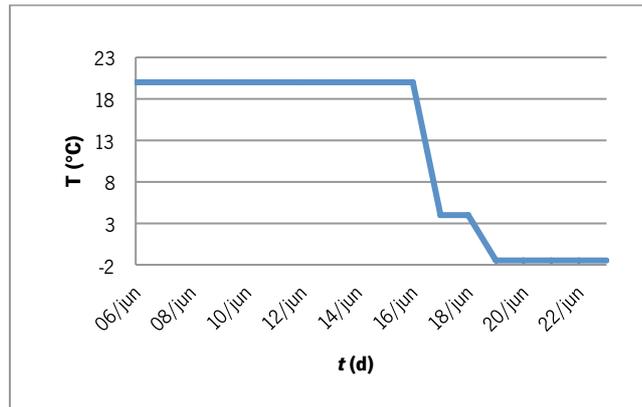


**Figura 22.** Diagrama da brassagem da cerveja de trigo.

No gráfico da Figura 22 é possível ver que a primeira etapa da brassagem teve uma duração de 45 min a 55 °C, seguindo-se o aumento para 66 °C na qual permaneceu durante 60 min, e por fim a

temperatura foi elevada até 76 °C mantendo-se assim durante 20 min. Posteriormente seguiram-se as etapas subsequentes, como por exemplo a ebulição, e terminou com o arrefecimento do mosto até 19 °C.

Após o mosto estar pronto, arrefecido e na cuba, foi introduzida a levedura iniciando-se a fermentação primária. Nesta fermentação foi utilizada a levedura WLP400, sendo que o respetivo diagrama de fermentação encontra-se na Figura 23.



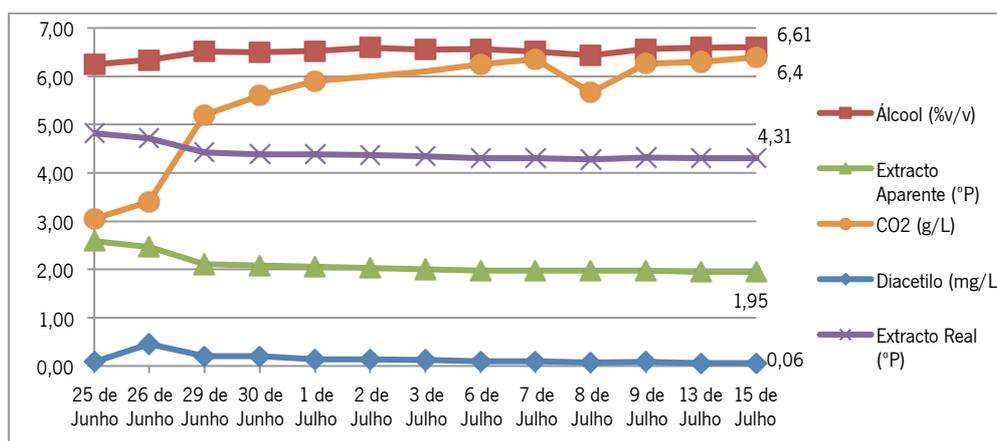
**Figura 23.** Diagrama da fermentação da cerveja de trigo.

Através do gráfico da Figura 23 é possível observar que a fermentação primária decorreu entre os dias 6 de Junho de 16 de Junho, no qual se observou que a atenuação real atingiu o valor esperado assim como a redução do diacetilo até aos níveis desejados, ou seja 70 % e 0,07 mg/L, respetivamente. A fermentação decorreu a uma temperatura de 20 °C, seguindo-se a redução da temperatura até 4 °C, entre os dias 16 de Junho e 19 de Junho, nos quais foi retirada a levedura. Seguiu-se uma nova redução até -1,5 °C para a estabilização, entre 19 de Junho e 23 de Junho. Após esta fase terminar a cerveja estava pronta para ser filtrada, este processo teve lugar no dia 23 de Junho. Seguidamente, ocorreu a adição dos ingredientes à cerveja filtrada, o enchimento, e a consequente refermentação na garrafa.

Os cálculos para este ensaio foram realizados com base no valor de CO<sub>2</sub> medido diretamente da cuba, sendo este de 3 g/L. Foi estabelecido que o valor final para este parâmetro deveria ser cerca de 5,8 g/L, sendo para isso necessário adicionar aproximadamente 4 kg de açúcar e 6 L de levedura.

Os resultados obtidos através do acompanhamento diário encontram-se no gráfico da Figura 24. O perfil de refermentação teve um comportamento esperado, sendo que se observou o aumento do nível do álcool devido à conversão dos açúcares, chegando a um valor final de 6,61 % v/v. Outra consequência do processo fermentativo que também se observou, foi o aumento do CO<sub>2</sub> até um valor final de 6,4 g/L (nos dias 2 e 3 de Julho ocorreu um erro nas medições). Este valor obtido é

ligeiramente maior do que aquele calculado, uma explicação provável para este fator deve-se à possível existência de açúcares fermentescíveis presentes na cerveja base. Como esperado, observou-se também uma redução dos extratos real e aparente até valores de 4,31 °P e 1,95 °P, respectivamente. Outro parâmetro importante que teve o comportamento desejado foi o diacetilo, verificando-se que o seu nível reduziu até 0,06 g/L. Este fator é muito importante, uma vez que se o resultado fosse superior a 0,10 mg/L, o diacetilo iria conferir características negativas à cerveja (Kunze, 2004c).



**Figura 24.** Dados recolhidos durante o acompanhamento do ensaio Bottle 10.1.

As análises realizadas, como referido anteriormente neste documento, foram efetuadas em duplicado, isto porque, durante a 2ª etapa verificaram-se algumas irregularidades entre garrafas do mesmo ensaio (ex.: quantidade de levedura presente). Assim, este acompanhamento em duplicado teve o intuito de analisar se as diferenças entre cada garrafa, eram significativas a ponto de originar um produto com características muito diferenciadoras. Na Tabela 20 encontram-se resultados em duplicado que foram obtidos em três dias distintos, os quais representam o comportamento da refermentação deste ensaio.

**Tabela 20.** Resultados das análises em duplicado do ensaio Bottle 10.1 relativos a três datas diferentes

Análises	26 de Junho		1 de Julho		15 de Julho	
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2
<b>Álcool (% v/v)</b>	6,34	6,28	6,53	6,54	6,61	6,59
<b>Extracto real (°P)</b>	4,72	4,8	4,38	4,38	4,31	4,30
<b>Extracto Aparente (°P)</b>	2,46	2,57	2,06	2,06	1,95	1,95
<b>Atenuação Real (%)</b>	68	68	71	71	71	71
<b>pH</b>	4,21	4,24	4,22	4,23	4,23	4,22
<b>CO<sub>2</sub> (g/L)</b>	3,4	3,8	5,9	5,7	6,4	6,3
<b>Contagem de células (10<sup>6</sup>/mL)</b>	5,2	1,0	1,8	2,8	2,1	3,0

Os resultados revelaram que todos os parâmetros se mantiveram muito semelhantes, apesar de se verificar alguma discrepância na percentagem de células existentes em cada garrafa. Ao longo do tempo, em ambas as amostras verificou-se que o pH se manteve aproximadamente constante, a redução dos extratos real e aparente, e o aumento do teor de álcool e CO<sub>2</sub>. Observa-se ainda que os resultados de ambas as amostras relativos ao produto final, analisados no dia 15 de Julho, apesar da ligeira diferença na quantidade de células presente, são todos extremamente semelhantes.

No final da refermentação foi analisado o produto final obtido, o qual teve os resultados apresentados na Tabela 21.

**Tabela 21.** Resultados representativos das características do produto final obtido no ensaio Bottle 10.1

<b>Análises</b>	<b>Bottle 10.1</b>
Extrato Primitivo (°Plato)	14,24
Álcool (% v/v)	6,61
Atenuação Real (%)	71
pH	4,23
Coloração (EBC)	8,6
CO <sub>2</sub> (g/L)	6,4
Contagem de células (10 <sup>6</sup> /mL)	2
Espumas (s)	110
Amargor (UA)	12
SO <sub>2</sub> (mg/L)	0

Como resultado deste ensaio obteve-se um produto de 14 °Plato, com um teor de álcool de 6,6 % v/v, a atenuação final atingiu os 71 % e o CO<sub>2</sub> atingiu a concentração de 6,4 g/L. O pH final foi de 4,23, uma valor satisfatório uma vez que segundo a literatura afirma, valores ótimos para a cerveja encontram-se entre 4,2 e 4,3, sendo que quando é muito reduzido a bebida ganha um sabor ácido. O produto final apresentou uma coloração de 8,6 EBC como seria de esperar, uma vez que era uma cerveja clara, e um amargor final de 12 UA, o que leva a concluir que se trata de uma cerveja pouco amarga. O resultado da estabilidade de espuma foi 110 s, um valor referenciado na literatura como sendo imperfeito, sendo por isso um valor que pode ser melhorado de forma a conferir uma característica visual mais imponente. Por último, a análise ao dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) revelou que este não estava presente no produto final, sendo que por um lado não poder ser benéfico no combate às mudanças oxidativas, porém também não confere aromas desagradáveis à cerveja (Brynildson, 2011; Kunze, 2004c; Munroe, 2006a).

Os resultados relativos à análise efetuada aos álcoois/ésteres do produto final do presente ensaio, encontram-se na Tabela 22.

**Tabela 22.** Resultados representativos da análise aos álcoois/ésteres do produto do ensaio Bottle 10.1

Análise A/E	Tempo 0	Tempo Final
Total Álcoois (mg/L)	140,05	140,15
Total Ésteres (mg/L)	49,81	49,38
A/E	2,81	2,84
Acetaldeído (mg/L)	7,27	5,12
DMS ( $\mu\text{g/L}$ )	21	19

Através da Tabela 22, é possível verificar que a relação álcoois/ésteres aumentou ligeiramente com a refermentação. Esta alteração deveu-se ao ligeiro aumento dos álcoois e pequena redução dos ésteres, este comportamento era esperado por parte dos álcoois porém também se deveria ter verificado um aumento de ésteres, devido ao aumento da temperatura de fermentação. Outra consideração importante, deve-se à relação álcoois/ésteres, pois observou-se ainda que a razão aqui atingida é satisfatória face aquela que é referida na literatura. Relativamente ao acetaldeído, este reduziu durante a segunda fermentação até um valor que se encontra entre a gama encontrada tipicamente nas cervejas. Por sua vez, o DMS, também conseguiu atingir valores razoáveis para uma cerveja, adicionalmente este composto teve resultados abaixo do limiar da perceção (Barnes, 2013; Kunze, 2004a).

Uma vez caracterizado o produto final do ponto de vista físico-químico, seguiu-se a análise sensorial. Foram realizadas três análises, a avaliação organolética, um teste triangular e um teste de estabilidade organolética. Os resultados relativos à avaliação organolética encontram-se na Tabela 23.

**Tabela 23.** Resultados obtidos na avaliação organolética do produto final obtido no ensaio Bottle 10.1

Cor/Aroma/Gosto	Avaliação Global
Boa, Interessante, Aroma tipo Weiss, Bom sabor, muito fresca, equilibrada; Pouca Espuma.	- 0,5 Satisfatório

Nesta avaliação, constatou-se que o produto final no geral agradou, sendo caracterizado com “interessante” e “muito fresco”, revelando ainda um “aroma tipo Weiss”. O resultado final, ainda que negativo devido principalmente à aparência da espuma, foi considerado satisfatório.

Relativamente ao teste triangular, realizado com produto fresco e produto pasteurizado, obteve os resultados apresentados na Tabela 24.

**Tabela 24.** Resultados obtidos no teste triangular do produto final obtido no ensaio Bottle 10.1

Identificou?		Preferência		
Sim	Não	Não Pasteurizada	Pasteurizada	Nenhuma
83 %	17 %	16,5 %	50 %	16,5 %

O resultado do teste triangular revelou que as amostras eram diferentes, com um nível de significância de 95 %, porém não foi apresentada uma preferência significativa. Através deste resultado, é possível afirmar que a pasteurização foi notória, porém as pessoas que assinalaram a diferença não apresentaram uma preferência generalizada, ainda que a maior parte tenha votado no produto pasteurizado.

No que diz respeito aos resultados conseguidos através do teste de estabilidade organolética, estes encontram-se representados na Tabela 25.

**Tabela 25.** Resultados obtidos na estabilidade organolética do produto final obtido no ensaio Bottle 10.1

Amostra	Cor/Aroma/Gosto	Avaliação Global	
Bottle 10.1	Ligeiramente oxidada/perde característica, fenólico.	- 0,7	Satisfatório
Bottle 10.1 Pasteurização	Perdeu aroma fenólico, aroma a queimado.	0,0	Satisfatório

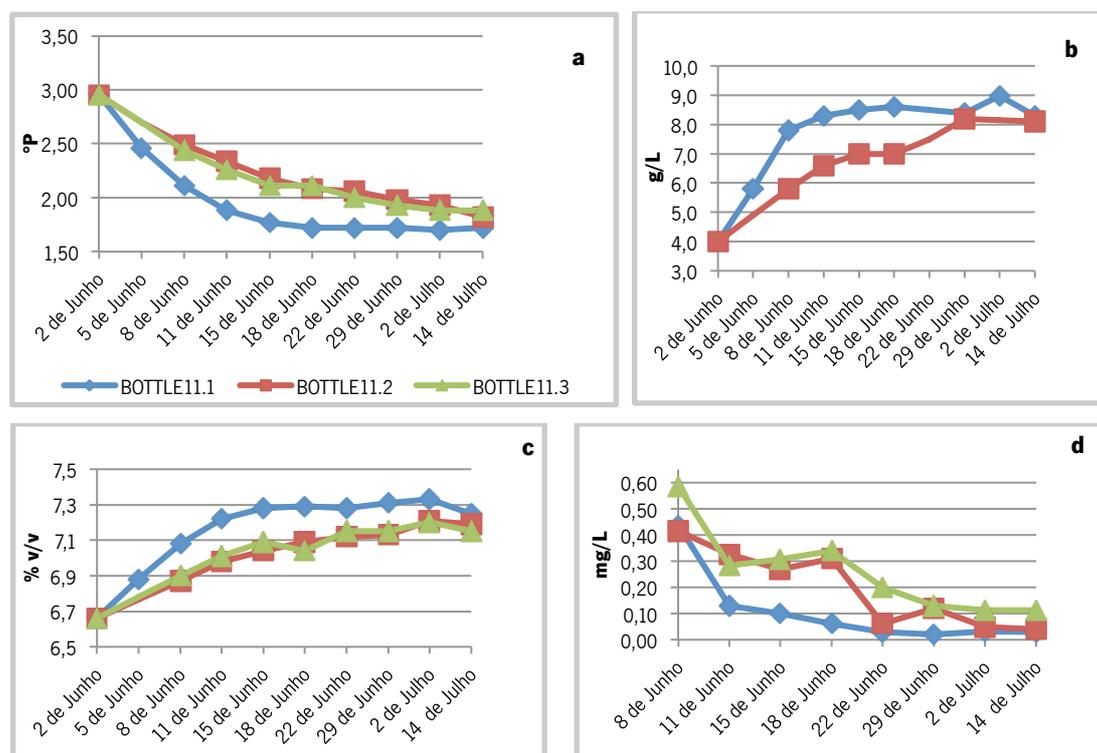
Os resultados alcançados através desta análise sensorial, revelaram que ambos os produtos conseguiram obter uma avaliação satisfatória, porém o produto que passou pelo processo de pasteurização teve uma melhor performance.

## **B. Cerveja “Brut”**

Durante o desenvolvimento deste ensaio, a cerveja utilizada como base não foi produzida na IP, e sim na Adega da Unicer sendo posteriormente transferida para cubas da IP. A cerveja foi colocada nas cubas de acordo com os ensaios que seriam realizados, ou seja, numa cuba foi colocada a quantidade necessária para os ensaios Bottle 11.1 ao 11.3, e numa outra foi colocada a cerveja para o ensaio Bottle 11.4. Na cuba com a cerveja que seria refermentada segundo o método *Champenoise*, foi adicionada uma maior quantidade de açúcar e levedura, pois uma das etapas incluiu a abertura da garrafa o que levaria à perda de CO<sub>2</sub>. Para estes ensaios, foi determinado que a quantidade de CO<sub>2</sub>

gerada seria aproximadamente 9 g/L, e uma vez que a quantidade presente na cerveja base andava à volta de 4 g/L, as quantidades de açúcar e levedura foram de 5,5 Kg e 8,5 L, respetivamente. Relativamente ao ensaio Bottle 11.4, a cerveja base tinha cerca de 4,5 g/L, e o valor final determinado foi de 5,8 g/L, sendo assim necessário adicionar 0,5 Kg e 0,7 L de açúcar e levedura, respetivamente. Uma vez que neste ensaio foram utilizados dois tipos de refermentação, a apresentação e discussão dos resultados vai ser abordada como tal, dando início com os resultados do método *Champenoise*.

O período de refermentação dos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3 foi de cerca de 4 semanas, e os resultados obtidos durante o acompanhamento desse período encontram-se de seguida.



**Figura 25.** Dados recolhidos durante o acompanhamento dos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3: a) Extrato Aparente, b) CO<sub>2</sub>, c) Álcool e d) Diacetilo.

Através dos resultados obtidos, verificou-se que ambas as fermentações decorreram como esperado, observando-se a redução do extrato aparente à medida que o teor de álcool e o CO<sub>2</sub> aumentaram. Outra constatação visível através dos gráficos da Figura 25, foi a diferença no comportamento das fermentações que decorreram a temperaturas distintas. O Bottle 11.1, que fermentou a uma temperatura mais alta ( $20\text{ }^{\circ}\text{C} < T < 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e tendo sido utilizada uma levedura de alta fermentação, revelou consequentemente uma conversão mais rápida dos açúcares presentes, e adicionalmente observou-se mais cedo o aumento do teor de álcool e de CO<sub>2</sub>. Foi determinada como alvo, a concentração final de 9 g/L de CO<sub>2</sub>, porém verificou-se que os valores obtidos estiveram ligeiramente

abaixo. Uma vez que esta fermentação se adiantou, verificou-se ainda que o diacetilo também começou a reduzir mais cedo, chegando a um valor satisfatório (inferior a 0,10 mg/L). Em relação aos ensaios Bottle 11.2 e 11.3, com a mesma temperatura de fermentação ( $T=14\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), a sua única distinção foi a vedação das garrafas, num foi utilizado obturador e cápsula e no outro utilizou-se a rolha da Amorim, respetivamente. Porém, através dos resultados é possível perceber que os perfis de refermentação de ambos os ensaios foram muito semelhantes. A medição do  $\text{CO}_2$  do ensaio Bottle 11.3 não foi realizada no acompanhamento diário, apenas no produto final, pois como a refermentação foi realizada com rolhas, este material não era compatível com o equipamento habitualmente utilizado.

Terminada a refermentação na garrafa, seguiram-se as etapas de *remuage* e *dégorgement*, tendo por fim o produto final. Os resultados obtidos para os produtos finais dos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3 encontram-se na Tabela 26.

**Tabela 26.** Resultados representativos das características dos produtos finais obtidos nos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3

<b>Análises</b>	<b>Bottle 11.1</b>	<b>Bottle 11.2</b>	<b>Bottle 11.3</b>
Extrato Primitivo ( $^{\circ}\text{Plato}$ )	15,14	15,12	16,01
Álcool (% v/v)	7,25	7,19	7,15
Atenuação Real (%)	73	73	72
pH	4,18	4,18	4,18
Coloração (EBC)	10,2	9,8	10,1
$\text{CO}_2$ (g/L)	8,3	8,1	8,0
Espumas (s)	141	135	138
Amargor (UA)	16	17	18
$\text{SO}_2$ (mg/L)	5	5	4
Turvação a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (EBC)	1,2	1,1	1,2
Turvação Total (EBC)	7,0	6,3	5,9

De uma forma geral, pode-se dizer ao observar os resultados demonstrados na Tabela 26 que os três ensaios tiveram resultados muito semelhantes. Os produtos obtidos tiveram entre  $15\text{ }^{\circ}\text{Plato}$  e  $16\text{ }^{\circ}\text{Plato}$ , atenuações entre 73 % e 72 %, e um teor alcoólico que variou entre 7,15 % v/v e 7,25 % v/v. O pH manteve-se ligeiramente abaixo da gama considerada ótima para este parâmetro, e a coloração obtida, que esteve bastante próxima nos três ensaios, confirmou tratar-se de um ensaio com uma cerveja clara. O nível de  $\text{CO}_2$  final também esteve bastante próximo, variando entre 8,0 g/L e 8,3 g/L. Apesar deste parâmetro ter sido inferior ao estipulado para o fim da fermentação na garrafa, na etapa de retirada de levedura a quantidade de  $\text{CO}_2$  perdida foi muito reduzida, não prejudicando assim a qualidade da cerveja. Os valores obtidos na estabilidade das espumas também devem ser tidos em

consideração, uma vez que ficaram abaixo de 220 s o que significa que são resultados insatisfatórias, ainda assim o Bottle 11.1 foi o ensaio que obteve melhores resultados. O amargor variou uma unidade entre os ensaios, sendo que o Bottle 11.3 revelou ser a cerveja mais amarga, no entanto no geral as cervejas exibiram resultados de amargor relativamente baixos. Quanto ao  $SO_2$ , todos os ensaios ficaram abaixo de 10 mg/L, não sendo por isso um fator preocupante. Neste ensaio, foram realizadas duas análises adicionais para determinar a turvação do produto, isto porque uma vez que a cerveja não foi filtrada, pretendia-se determinar o quanto o método de retirada de levedura havia sido eficaz. Mais uma vez, fazendo uma revisão geral dos resultados, verificou-se que os ensaios tiveram valores muito semelhantes, adicionalmente observou-se que ambos os ensaios apresentaram uma turvação permanente. Os resultados obtidos para ambas as análises da turvação, quer a 20 °C quer a total, estiveram acima dos limites indicados na literatura (0,8 EBC e 2 EBC ou 3 EBC, respetivamente). Concluiu-se assim que a turvação é permanente, podendo esta dever-se a vestígios de células de levedura que não tenham sido completamente removidos (Barnes, 2013; Kunze, 2004c; Munroe, 2006a; O'Rourke, 2002b).

Os resultados obtidos na análise aos álcoois e ésteres dos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3, encontram-se na Tabela 27.

**Tabela 27.** Resultados representativos da análise aos álcoois e ésteres dos produto dos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3

Análise A/E	Tempo 0	Bottle 11.1	Bottle11.2	Bottle11.3
Total Álcoois (mg/L)	160,35	152,28	166,15	151,14
Total Ésteres (mg/L)	29,56	30,68	32,39	52,84
A/E	5,42	4,96	5,13	2,86
Acetaldeído (mg/L)	5,44	7,55	7,96	5,65
DMS (µg/L)	18	25	21	18

Analisando os resultados obtidos, observa-se que os comportamentos de cada ensaio foram bastante distintos. No ensaio Bottle 11.1, uma vez que fermentou a uma temperatura alta, era suposto ter-se observado um aumento dos álcoois e dos ésteres, porém verificou-se que apenas os ésteres aumentaram. Um dos motivos possíveis para o comportamento dos álcoois, pode estar relacionado com a temperatura de inóculo. Por sua vez, nos ensaios Bottle 11.2 e 11.3 que fermentaram a uma temperatura baixa, era esperado que os álcoois e os ésteres diminuíssem, no entanto ambos não tiveram o comportamento esperado (apenas no Bottle 11.3 se observou uma diminuição do nível dos álcoois). Neste caso, o aumento dos álcoois no Bottle 11.2 pode ser explicado por exemplo pela

redução do teor de aminoácidos, enquanto o aumento dos ésteres pode ser devido ao aumento da atenuação ou pela entrada de oxigênio aquando o enchimento. Relativamente à relação álcoois/ésteres, no Bottle 11.3 observou-se uma grande discrepância entre a redução dos álcoois e o aumento dos ésteres, que significou numa grande redução desta relação. Segundo a literatura esta relação é particularmente importante, sendo que a razão favorável é cerca de 1:2,5 a 3, e por esta ordem de ideias o ensaio Bottle 11.3 foi o que teve mais perto dessa razão (Kunze, 2004a).

Os resultados relativos ao acetaldeído demonstraram que após a fermentação na garrafa, em ambos os ensaios se observou um aumento da sua concentração, ainda que os valores obtidos estejam dentro do limite referido na literatura. O aumento deste composto pode estar relacionado com a fermentação (pode ter sido rápida) ou mesmo pela quantidade de levedura adicionada (pode ter sido elevada). Por último, quanto ao DMS verificou-se um aumento após a fermentação nos ensaios Bottle 11.1 e Bottle 11.2, sendo que no geral nos valores ficaram abaixo, ou igualado ao limite inferior no Bottle 11.1, da gama relativa ao limiar de perceção (Barnes, 2013).

Posteriormente seguiram-se as análises sensoriais, na Tabela 28 encontram-se os resultados relativos à avaliação organolética, na qual foram apresentados os produtos finais de cada ensaio no estado fresco.

**Tabela 28.** Resultados obtidos na avaliação organolética dos produtos finais obtidos nos ensaios Bottle 11.1 ao 11.3

Amostra	Preferência (%)			Comentários	Preferência global (%)	Avaliação Global	
	Cor/ Aparência	Aroma	Sabor				
Bottle 11.1	20	29	17	Encorpada, equilibrada. Pouco CO <sub>2</sub> .	17	- 0,5	Satisfatório
Bottle 11.2	40	14	66	Bastante agradável, equilibrada.	50	0	Satisfatório
Bottle 11.3	40	57	17	Melhor aroma, frutada, fresca.	33	- 0,3	Satisfatório

Na avaliação organolética, todos os produtos tiveram resultados satisfatórios, porém foi demonstrado um claro favoritismo pelos produtos que fermentaram na Murganheira. A preferência global recaiu sobre a cerveja que foi fermentada na Murganheira a uma temperatura de 14 °C e com as garrafas seladas com cápsula e obturador (Bottle 11.2), sendo caracterizada com “equilibrada” e “agradável”.

No teste triangular foram utilizados produtos do ensaio Bottle 11.1, um fresco e outro pasteurizado, como forma de testar se a pasteurização era notória. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 29.

**Tabela 29.** Resultados obtidos no teste triangular do produto final obtido no ensaio Bottle 11.1

Identificou?		Preferência		
Sim	Não	Não Pasteurizada	Pasteurizada	Nenhuma
17 %	83 %	—	—	17 %

Este teste demonstrou, através dos seus resultados, que apenas uma pequena percentagem detetou que o produto era diferente, porém essa mesma percentagem não teve preferência entre os produtos. Desta forma, foi possível concluir que não houve diferença significativa entre as amostras.

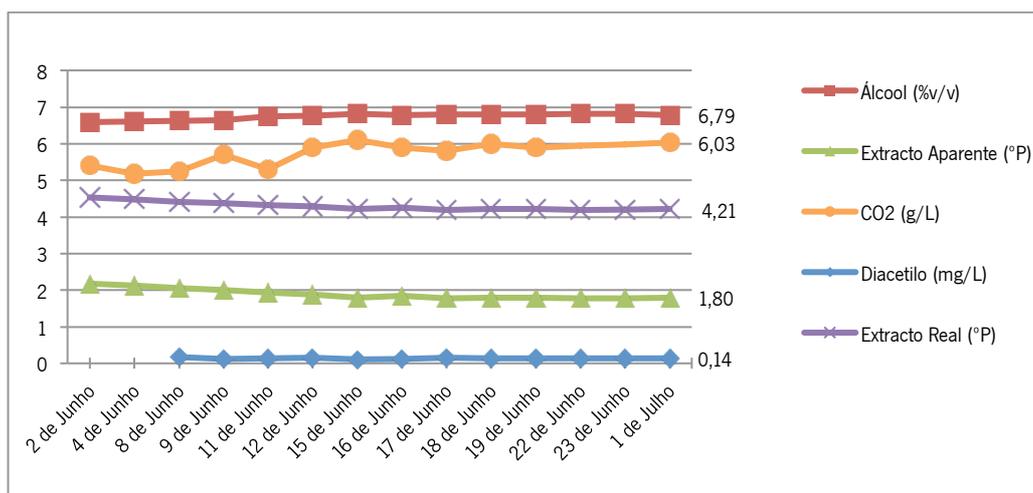
Relativamente ao teste de estabilidade organolética, foram submetidos produtos frescos dos três ensaios e pasteurizados dos ensaios Bottle 11.1 e 11.3, os resultados encontram-se na Tabela 30.

**Tabela 30.** Resultados obtidos na estabilidade organolética dos produtos finais obtidos nos ensaios Bottle 11.1 a 11.3

Amostra	Comentários	Avaliação Global	
Bottle 11.1	Ligeiramente oxidada/doce, mais escura.	- 1,0	Não suficientemente satisfatório
Bottle 11.1 (Past.)	Ligeiramente sulfídrica, papel, seca.	- 0,3	Satisfatório
Bottle 11.2	Papel/adstringente, oxidada	- 0,7	Satisfatório
Bottle 11.3	Aroma a cartão, mofo/cave húmida, rolha	- 2,0	Não satisfatório
Bottle 11.3 (Past.)	Ligeiramente oxidada, fenólico/papel	0,0	Satisfatório

Esta análise revelou que os produtos pasteurizados tiveram uma boa performance, conseguindo resultados satisfatórios. Quanto aos produtos frescos, o Bottle 11.1 que fermentou na Unicer não conseguiu obter um resultado satisfatório revelando características negativas. O Bottle 11.3 também revelou um resultado muito negativo, levando a questionar a utilização da rolha durante a refermentação, pois como a bebida esteve em contacto com este material, podem ter sido atribuídos sabores indesejáveis. Por conseguinte, no que concerne aos produtos frescos, apenas o ensaio Bottle 11.2 obteve resultados satisfatórios.

Terminada a análise aos ensaios que foram desenvolvidos segundo o método *Champenoise*, seguem-se os resultados relativos ao ensaio Bottle 11.4. No gráfico da Figura 26 é possível verificar os resultados obtidos através do acompanhamento ao longo da refermentação.



**Figura 26.** Dados recolhidos durante o acompanhamento do ensaio Bottle 11.4

De acordo com os resultados obtidos, é possível concluir que o nível de fermentação neste ensaio foi reduzido. Ainda assim, observou-se o comportamento típico de fermentação, pois os extratos e o diacetilo reduziram e o álcool e o CO<sub>2</sub> aumentaram. Os extratos reduziram, no entanto não se observou uma diferença significativa entre os valores iniciais e finais. O teor de CO<sub>2</sub> aumentou ligeiramente, em relação aos valores medidos, nos dias 22 de Junho e 23 de Junho ocorreu um erro com a medição não sendo assim considerados. Outra consequência diz respeito ao álcool que subiu muito pouco, terminando por atingir 6,79 % v/v. No entanto, o grau da fermentação na garrafa deste ensaio já era suposto ser reduzido, uma vez que a concentração do CO<sub>2</sub> da cerveja base foi bastante alto, quando comparado com o valor final que se pretendia obter. O diacetilo neste ensaio reduziu, porém ficou ligeiramente acima do limiar de percepção referido na literatura (0,10 mg/L) (Kunze, 2004c).

O produto final resultante deste ensaio, obteve as características finais demonstradas na Tabela 31.

**Tabela 31.** Resultados representativos das características do produto final obtido no ensaio Bottle 11.4

Análises	Bottle 11.4
Extrato Primitivo (°Plato)	14,41
Álcool (% v/v)	6,79
Atenuação Real (%)	72
pH	4,18
Coloração (EBC)	9,4
CO <sub>2</sub> (g/L)	6,03
Contagem de células (10 <sup>5</sup> /mL)	1
Espumas (s)	183
Amargor (UA)	17
SO <sub>2</sub> (mg/L)	2

O ensaio Bottle 11.4 resultou num produto final com 14 °Plato, com teor de álcool de 6,79 % v/v e uma atenuação de 72 %. O pH foi ligeiramente inferior ao intervalo de valores considerados ótimos, e o resultado da coloração confirmou que se tratava de uma cerveja clara. O nível de CO<sub>2</sub> final foi de 6,03 g/L, um pouco mais elevado ao que foi estipulado para os cálculos do açúcar e levedura a adicionar, porém como já referido, o valor da cerveja base era bastante elevado, e há ainda a possibilidade de poderem existir açúcares fermentescíveis. Os resultados da estabilidade das espumas não foram totalmente satisfatórias, uma vez que o resultado foi inferior ao valor presente na literatura. O amargor da cerveja foi de 17, revelando ser uma cerveja pouco amarga. Por fim, o nível de SO<sub>2</sub> presente não é preocupante pois é inferior ao limite que está presente na literatura (Brynildson, 2011; Kunze, 2004c; Munroe, 2006a).

Em relação à análise aos álcoois/ésteres presentes no produto final deste ensaio, os resultados encontram-se na Tabela 32.

**Tabela 32.** Resultados representativos da análise aos álcoois/ésteres do produto do ensaio Bottle 11.4

Análise A/E	Tempo 0	Tempo Final
Total Álcoois (mg/L)	163,04	166,78
Total Ésteres (mg/L)	29,37	30,91
A/E	5,55	5,40
Acetaldeído (mg/L)	5,57	8,40
DMS (µg/L)	14	15

Uma vez que este ensaio foi fruto de uma fermentação a uma temperatura elevada, era esperado que os álcoois e os ésteres aumentassem, comportamento que se verificou. A relação dos álcoois/ésteres diminuiu, porém ainda se encontra um pouco afastada daquela que segundo a literatura refere como razão favorável (1:2,5 a 3). Quanto ao acetaldeído este deveria ter diminuído, porém o seu aumento pode ser explicado pelo facto de ter ocorrido uma rápida fermentação. Ainda assim, ambos os valores obtidos para este parâmetro encontram-se dentro do limite referido na literatura. Por fim, verificou-se um pequeno aumento no teor de DMS, apesar disso ambos os valores medidos encontram-se abaixo do limiar de perceção (Barnes, 2013; Kunze, 2004a; Kunze, 2004c).

O produto final desta prova revelou um baixo nível de refermentação, o qual influenciou muito pouco nas características do produto. Foi realizada uma pequena prova sensorial no fim da refermentação para perceber como o produto se encontrava, e foi concluído que o mesmo não apresentava características suficientemente distintas que impulsionssem o avanço nos testes sensoriais. Assim,

uma vez que a refermentação não conferiu características que tornassem o produto uma mais valia, optou-se por não levar este produto à prova final com o painel de provadores oficiais na Unicer.

## 6. CONCLUSÕES

No decorrer da 1ª etapa deste projeto foi possível perceber que este mercado teve uma incrível evolução, existindo assim os mais variados produtos. Posto isto, concluiu-se essencialmente que o mercado presenteia os consumidores com uma linha de produtos muito diversificada, com características muito variadas, e como tal a escolha varia muito com o gosto de cada pessoa. No entanto, analisando os resultados, tanto os sensoriais como os físico-químicos, da gama de cervejas recolhida, foi possível perceber que a preferência foi direcionada para cervejas claras e com pouco amargor.

Na 2ª etapa foram realizados 14 ensaios laboratoriais, nos quais foram testados 7 tipos diferentes de cerveja, e ainda 4 de leveduras e dois tipos de açúcares. Nestes ensaios ocorreram contaminações em alguns ensaios (assinaladas pelos níveis crescentes de diacetilo e os sabores e aromas fortemente desagradáveis), muito provavelmente por bactérias do ar ou até por leveduras selvagens. Por este motivo testou-se a pasteurização e concluiu-se que o programa de 20 UPs é suficiente para neutralizar estas ameaças, conferindo maior estabilidade ao produto.

Outro facto constatado durante o acompanhamento dos ensaios, foi o difícil controlo do CO<sub>2</sub>, pois a quantidade perdida nem sempre foi a mesma, e ainda observou-se que algumas cervejas ainda tinham açúcares fermentescíveis presentes. Observou-se ainda que as garrafas apresentaram variações na quantidade de células de levedura presente, o que pode ter sido causado pelo facto dos aglomerados de levedura não estarem completamente dissolvidos aquando o momento do enchimento. Por estes motivos, o CO<sub>2</sub> nem sempre atingiu os valores que se pretendia, porém os resultados em geral foram bastantes satisfatórios. Relativamente aos produtos obtidos que apresentaram melhor qualidade, foram submetidos a prova sensorial e foi possível concluir que a preferência recaiu sobre as cervejas de trigo e a cerveja com base Cristal. Quanto ao comportamento do açúcar e do mosto, este último não acrescentou grande valor e ainda deve ter-se em consideração que está presente o risco de possível contaminação microbiológica. No que concerne às leveduras, a WLP400 revelou ser uma boa levedura para realizar a refermentação em garrafa, pois conferiu boas características à cerveja e não se observou um crescimento celular muito elevado.

Na terceira e última etapa deste projeto, foram desenvolvidas duas cervejas com dois métodos distintos de refermentação, a cerveja de trigo fermentada pelo método *Priming* e a cerveja Brut fermentada pelo método *Champenoise*. A produção da cerveja de trigo, e posterior refermentação, obtiveram resultados

satisfatórios, sendo que no geral conseguiu-se obter um produto com boa qualidade, cujo estilo se encaixa numa cerveja belga de trigo (*Wit/Blanche*). O perfil de refermentação desta cerveja, seguiu um comportamento esperado observando-se o consumo dos açúcares e consequente aumento do teor alcoólico e do CO<sub>2</sub>. A realização das análises em duplicado serviu para confirmar que, embora por vezes a quantidade de células presente não fosse a mesma, os resultados relativos aos parâmetros físico-químicos foram muito semelhantes. O produto final obtido neste ensaio, uma cerveja com 14 °Plato, 6,6 % v/v e 12 UA, alcançou resultados satisfatórios nas análises sensoriais.

Em relação à cerveja Brut, na qual foi utilizada cerveja recolhida da adega da Unicer, apenas três ensaios realizaram todas as análises propostas. Isto porque, no quarto ensaio que consistia em testar o método *Priming* na cerveja base selecionada, após efetuar uma pequena prova ao produto final, concluiu-se que a refermentação não lhe conferiu diferenças significativas. Quanto aos ensaios realizados pelo método *Champenoise* todos tiveram perfis de refermentação satisfatórios, nos quais se observou que o ensaio Bottle 11.1 (fermentou a temperatura mais elevada) consumiu mais rapidamente o extrato, e consequentemente observou-se mais cedo o aumento do teor de álcool e do CO<sub>2</sub> (já esperado pois utilizou-se uma levedura *ale*). Os produtos finais obtidos revelaram ser produtos satisfatórios físico-quimicamente, não se notando diferenças significativas entre eles, no entanto em ambos as espumas e a turvação são parâmetros que requerem no futuro uma maior consideração. Relativamente às análises sensoriais, o produto final do Bottle 11.2 foi considerado o produto preferido pelos provadores, sendo ele refermentado na garrafa na Murganheira a uma temperatura de 14 °C e com a garrafa selada com obturador e cápsula. No teste triangular, a pasteurização passou despercebida para a grande maioria dos consumidores. Por último, no teste de estabilidade organolética, os produtos pasteurizados tiveram resultados satisfatórios, assim como o produto fresco da cerveja eleita como preferida, porém o grande impacto negativo foi dado pelo produto fresco do Bottle 11.3, fermentado com a rolha da Amorim, o qual apresentou *off flavours* bastante desagradáveis.

Como corolário deste projeto, o objetivo principal proposto foi conseguido, visto que as dificuldades encontradas durante o percurso deste estudo foram ultrapassadas, sendo assim possível a concepção de dois produtos finais refermentados na garrafa que apresentaram uma qualidade satisfatória. Durante o desenvolvimento deste projeto concluiu-se também que a microbiologia é crucial para o sucesso da fermentação. Por este motivo, e porque se verificou que a pasteurização não tem impacto negativo na qualidade do produto, esta alternativa deve ser considerada como uma medida de segurança. Por último, concluiu-se também que o método *Champenoise* aliado à produção de cerveja,

pode ser um trunfo poderoso para a criação de produtos únicos, com elegância, requinte e frescura, unindo assim o melhor destes dois mundos.



## 7. RECOMENDAÇÕES FUTURAS

Ao longo do desenvolvimento foram surgindo obstáculos, que devem ser alvo de uma maior atenção num ensaio futuro. Uma das dificuldades encontrada, foi o difícil controlo do CO<sub>2</sub>, apesar de no geral terem-se conseguido resultados satisfatórios, nem sempre se conseguiu atingir a quantidade desejada. Nos ensaios laboratoriais é difícil prever o CO<sub>2</sub> inicial, o que consequentemente dificulta a conquista da quantidade final pretendida. Adicionalmente, existem cervejas que ainda tem açúcares fermentescíveis que a levedura pode converter, devendo assim ser necessário fazer uma análise à atenuação limite, de forma a perceber a sua concentração e assim considerá-la no cálculo da quantidade de CO<sub>2</sub> desejada.

A homogeneidade do produto nas garrafas de cerveja também deve ser uma componente a ter em atenção. Os resultados obtidos mostraram que as garrafas diferem na quantidade de levedura, e como tal a formação de CO<sub>2</sub> também diferiu, porém foi aproximada. Em escala piloto, após a transferência da cerveja para a cuba, a temperatura na qual ela permanece até ser inoculada deve ser estudada, pois pensa-se que se esta fosse mais elevada (ex.: no ensaio Bottle 11.x estava a 2 °C) seria mais apropriado para uma melhor dissolução da levedura.

Durante a refermentação na garrafa a nível piloto, utilizou-se sempre uma levedura *a/e*, porém na escolha da levedura deverá ter-se em consideração a temperatura de fermentação, de modo a otimizar este processo. Deve ainda ser avaliada, a propagação da levedura nas condições a que vai ser submetida (temperatura, rolha ou cápsula, teor de álcool).

Uma vez que se opte por utilizar o método *Champenoise*, e sendo ainda intenção fermentar a cerveja com rolha, é necessário ter em consideração no momento de enchimento o seu nível de inserção. Este deve ser ligeiramente menor do que habitualmente utilizado para fechar as garrafas de 75 cL (24 ±1 cm), de maneira a facilitar a sua retirada na etapa de *dégorgement*.

Uma componente muito importante e que merece uma grande atenção, é a estabilidade microbiológica. Todos os materiais ou equipamentos que entrem em contacto com o produto devem ser esterilizados/desinfetados. Adicionalmente os materiais como as garrafas, devem sair das embalagens apenas no momento da sua utilização, sendo que a sua embalagem deve estar intacta. Para minimizar o risco de contaminações a pasteurização deve ser considerada, sendo que quando se opta por esta via deve ter-se em atenção ao volume líquido das garrafas para impedir que estas não partam ou que as rolhas saltem.



## BIBLIOGRAFIA

- Bamforth, C. (2011). Haze. In G. Oliver, *The Oxford Companion to Beer* (p. 422). New York: Oxford University Press Inc.
- Barnes, T. (2013). Effects of Fermentation Temperature and Aeration on Production of Natural Isoamyl Acetate by *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. *Zymurgy Magazine*, 0-42.
- Beer Tourism. (n.d.). *Deus Brut Des Flandres*. Consultado em Maio 2, 2015, disponível em <http://belgium.beertourism.com/belgian-beers/deus-brut-des-flandres>
- Belgian Happiness. (n.d.). *Belgian Beers*. Consultado em Dezembro 14, 2014, disponível em <http://www.belgianhappiness.com/belgian-beers>
- Bershad, K. (n.d.). *Making Champagne*. Consultado em Maio 2, 2015, disponível em <http://www.finewineconciierge.com/making-champagne>
- Beverage, B. (n.d.). *Deus*. Consultado em Dezembro 16, 2014, disponível em <http://www.belbev.asia/products/Deus.php>
- Boekhout, T., & Robert, V. (2003). *Yeast in food*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Boulton, C. (2013). Secondary fermentation. In C. Boulton, *Encyclopaedia of Brewing* (p. 538). Reino Unido: John Wiley & Sons, Ltd.
- Branthill Farm. (n.d.). *How to store bottle conditioned beer*. Consultado em Novembro 29, 2014, disponível em <http://www.therealaleshop.co.uk/how-to-store-bottle-conditioned-beer/>
- Broderick, M. (1978). *El cervecero em la practica: um manual para la industria cervecera* (2nd ed.). Venezuela: Industr Cervecera Venezolana.
- Brynildson, M. (2011). Bitterness Units. In G. Oliver, *The Oxford Companion to Beer* (pp. 134-135). New York: Oxford University Press Inc.
- Canonico, L., Comitini, F., & Ciani, M. (2014). Dominance and influence of selected *Saccharomyces cerevisiae* strains on the analytical profile of craft beer refermentation. *The institute of Brewing & Distilling*, 262-267.
- Cavallero, R. (n.d.). *Matéria-prima*. Consultado em Janeiro 2015, disponível em <http://saint-bieer.blogspot.pt/2012/08/materia-prima.html>
- Dibevit, I. (n.d.). *Top Refermented in the Bottle*. Consultado em Dezembro 16, 2014, disponível em <http://www.dibevit.com/en/birre-cerca.php?f=RIFERMENTATA>

- Dragone, G., & Almeida e Silva, J. B. (2010). Cerveja. In W. Venturini, *Bebidas Alcoólicas: ciência e tecnologia* (Vol. 1, p. 492). São Paulo: SP: Blucher.
- Dunn, A. (2006). Packaging Technology. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 563-606). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Duvel, T. B. (n.d.). *Duvel*. Consultado em Dezembro 16, 2014, disponível em <http://www.duvel.com/en/the-beer/duvel>
- Encyclopaedia Britannica. (n.d.). *Brewing process*. Consultado em Janeiro 2015, disponível em <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/659988/malting>
- Goldammer, T. (2008). *The Brewers' Handbook: the Complete Book to Brewing Beer*. Virginia: Apex Publishers.
- Jones, N. (2011). Ale. In G. Oliver, *The Oxford Companion to Beer* (pp. 26-28). New York: Oxford University Press.
- Kimexco. (n.d.). *Méthode champenoise*. Consultado em Maio 2, 2015, disponível em [http://kimexco.com/Wine\\_Investments\\_Methode\\_Champenoise.html](http://kimexco.com/Wine_Investments_Methode_Champenoise.html)
- Kunze, W. (2004a). Beer Production. In W. Kunze, *Technology Brewing and Malting* (pp. 367-532). Berlin, Germany: Versuchs und Lehranstalt für Brauerei (VLB).
- Kunze, W. (2004b). Filling the beer. In W. Kunze, *Technology Brewing and Malting* (pp. 532-716). Berlin, Germany: Versuchs und Lehranstalt für Brauerei (VLB).
- Kunze, W. (2004c). Finished Beer. In W. Kunze, *Technology of Brewing and Malting* (pp. 732-786). Berlin, Germany: Versuchs und Lehranstalt für Brauerei (VBL).
- Leiper, K., & Miedl, M. (2006). Brewhouse Technology. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 383-446). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Magalhães, P., Carvalho, D., Cruz, J., Guido, L., & Barros, A. (2009). Fundamentals and Health Benefits of Xanthohumol, a Natural Product Derived from Hops and Beer. *Natural Product Communications*, 4 (5), 591-610.
- Munroe, J. (2006a). Aging and Finishing. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 525-551). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Munroe, J. (2006b). Fermentation. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 487-524). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Oliver, G. (2011a). Bottle conditioning. In G. Oliver, *The Oxford Companion to beer* (pp. 148-150). New York: Oxford University Press Inc.
- Oliver, G. (2011b). Bottles. In G. Oliver, *The Oxford Companion to Beer* (pp. 150-151). New York: Oxford University Press Inc.

- Oliver, G. (2011c). Bottling. In G. Oliver, *The Oxford Companion to Beer* (pp. 152-154). New York: Oxford University Press.
- O'Rourke, T. (2002a). Beer foam. *The Brewer International*, 10-13.
- O'Rourke, T. (2002b). Beer stabilization. *The Brewer International*, 41-42.
- Palmer, G. (2006). Barley and Malt. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 139-160). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Palmer, J. (2003). How to measure, calculate and control the color of your beer. *Brew Your Own*, 28-33.
- Papazian, C. (2006). Beer Styles: Their Origins and Classification. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 39-76). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Parkes, S. (2011). Apparent extract. In G. Oliver, *The Oxford Companion to Beer* (p. 60). New York: Oxford University Press Inc.
- Peacock, V. (2011). Bitterness. In G. Oliver, *The Oxford Companion to Beer* (pp. 131-134). New York: Oxford University Press Inc.
- Portaria n.º 1/96 de 3 de Janeiro. *Diário da República n.º 2 - 1ª Série-B*. Ministérios da Economia e da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
- RateBeer. (n.d.). Consultado em Dezembro 14, 2014, disponível em <http://www.ratebeer.com/>
- Rhodes, C. (2014a). Color. In C. Rhodes, *The Encyclopedia of Beer: The Beer Lover's Bible - A Complete Reference To Beer Styles, Brewing Methods, Ingredients, Festivals, Traditions, And More*. New York: Henry Holt & Company.
- Rhodes, C. (2014b). Original gravity. In C. Rhodes, *The Encyclopedia of Beer: The Beer Lover's Bible - A Complete Reference To Beer Styles, Brewing Methods, Ingredients, Festivals, Traditions, And More*. New York: Henry Holt & Company.
- Roberts, T., & Wilson, R. (2006). Hops. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 177-280). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Russel, I. (2006). Yeast. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 281-332). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Ryder, D., & Power, J. (2006). Miscellaneous Ingredients in Aid of the Process. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (pp. 333-382). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Saison, D., Schutter, D., Vanbeneden, N., Daenen, L., Delvaux, F., & Delvaux, F. (2010). Decreased of Aged Beer Aroma by the Reducing Activity of Brewing Yeast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry Article*, 58, 3107-3115.

- Santos, M. (2005). *Cervejas e refrigerantes*. São Paulo: CETESB.
- Schropp, P., Bruder, T., & Forstner, A. (2002). Evaluation of the NIR method for measuring the alcohol content and other connected parameters in beer (Alcolyzer Beer). *Anton Paar*, 0-8.
- Shellhammer, T., & Peacock, V. (2011). Iso-alpha acids. In G. Oliver, *The Oxford Companion to Beer* (pp. 497-498). New York: Oxford University Press Inc.,.
- Stewart, G. (2006). Adjunts. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 161-176). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Taylor, D. (2006). Water. In F. Priest, & G. Stewart, *Handbook of Brewing* (2nd ed., pp. 91-138). Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- Unicer. (2004a). *Álcool, Extratos e Grau de Fermentação pelo Auto-Analisador Anton Paar*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004b). *Amargor da Cerveja: Método Espectofotométrico*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004c). *Análise Sensorial: Controlo Organolético*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004d). *Análise Sensorial: Teste Triangular*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004e). *Contagem de Células de Levedura pelo Contador Electrónico*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004f). *Diacetilo na Cerveja: Método Cromatográfico por G.C.* Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004g). *DMS e outros compostos voláteis de ponto de ebulição baixo em cerveja por cromatografia gasosa*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004h). *Estabilidade de Espuma na Cerveja: Método de NIBEM*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004i). *Estabilidade Organoléptica da Cerveja*. Porto: (Unicer, 2004).
- Unicer. (2004j). *Quantificação de Microorganismos Nocivos e Não Nocivos na Cerveja*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004l). *Turvação da Cerveja a 20 °C: Pelo Turbidímetro HZ-013*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2004m). *Turvação Total da Cerveja: Pelo Turbidímetro HZ-013*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2009). *Contagem de Células de Levedura: Hematimetria*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.

- Unicer. (2011a). *Determinação do SO<sub>2</sub> em Cerveja: Sistema em Fluxo Segmentado (SKALAR)*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2011b). *Dióxido de Carbono em Garrafa/Lata de Cerveja: Método CarboQC -Anton Paar*. Porto: Unicer - Bebidas de Portugal S.A.
- Unicer. (2015a). *História da Cerveja*. Consultado em Janeiro 2015, disponível em <http://www.unicer.pt/pt/home-pt/marcas/cervejas/historia-da-cerveja>
- Unicer. (2015b). *Produção da Cerveja*. Consultado em Janeiro 2015, disponível em <http://www.unicer.pt/pt/home-pt/marcas/cervejas/producao-da-cerveja>
- Unicer. (2015c). *Tipos de Cerveja*. Consultado em Janeiro 2015, disponível em <http://www.unicer.pt/pt/home-pt/marcas/cervejas/tipos-de-cerveja>
- Venturini, W. (2005). Cerveja. In W. Venturini, *Tecnologia de Bebidas* (1st ed., p. 550). São Paulo: Edgard Blucher.
- Yilmaztekin, M., Cabaroglu, T., & Erten, H. (2013). Effects of Fermentation Temperature and Aeration on Production of Natural Isoamyl Acetate by *Williopsis saturnus* var. *saturnus*. *BioMed Research International*, 0-6.
- Young, T., & Lewis, M. (2002). *Brewing*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Zoecklein, B. (2002). *A review of méthode champenoise production*. Virginia: Virginia State of University.



# ANEXO I – BOLETINS DE PROVA

## I-A Avaliação Organolética



### Avaliação Organolética

Nome do Projeto:
Data:
Nome do Proveedor:
Número Mecanográfico:

**(1) Preferência Global** - Colocar as amostras por ordem crescente de preferência, sendo 1 a preferida

**(2) Avaliação Global** - Classificar as amostras segundo a escala:

+1 Produto de ótima qualidade

0 Normal para este tipo de produto

-1 Com defeitos aceitáveis para este tipo de produto

-2 Com defeitos não aceitáveis para este tipo de produto

-3 Com defeitos graves que requerem ação

	Codificação da amostra	Cor/ Aparência	Preferência de cor	Aroma	Preferência de aroma	Sabor	Preferência de sabor	Preferência Global (1)	Avaliação Global (2)
1ª Série	101								
	102								
	103								
2ª Série	104								
	105								
	106								
	107								
3ª Série	108								
	109								
	110								
	111								
4ª Série	112								
	113								
	114								
5ª Série	114								

**I-B Teste triangular****TESTE TRIANGULAR**

Série N.º: \_\_\_\_\_ Produto: \_\_\_\_\_

São-lhe apresentadas 3 amostras.  
Faça um círculo na amostra que é diferente das outras duas.

3 Amostras - (n.º / código)

\_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Qual das amostras prefere? \_\_\_\_\_

Porquê? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Série N.º: \_\_\_\_\_ Produto: \_\_\_\_\_

São-lhe apresentadas 3 amostras.  
Faça um círculo na amostra que é diferente das outras duas.

3 Amostras - (n.º / código)

\_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_

Qual das amostras prefere? \_\_\_\_\_

Porquê? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

N.º Mecn. \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

## ANEXO II – EXEMPLO DE CÁLCULO

### II-A Cálculo da quantidade de açúcar a adicionar

Por exemplo para o ensaio Bottle 5.1, tendo como objetivo final obter uma concentração de 5,2 g/L de CO<sub>2</sub>, e supondo que a cerveja base contém 1,7 g/L de CO<sub>2</sub>, será necessário gerar cerca de 3,5 g/L de CO<sub>2</sub>, assim:

$$\begin{aligned} 1 \text{ L de cerveja} &\rightarrow 3,5 \text{ g} \\ 10 \text{ L de cerveja} &\rightarrow x \\ x &= \frac{10 \times 3,5}{1} = 35 \text{ g de CO}_2 \end{aligned}$$

Sabendo que a massa molar do CO<sub>2</sub> é de 44,01 g/mol, vem que:

$$\begin{aligned} 44 \text{ g} &\rightarrow 1 \text{ mol} \\ 35 \text{ g} &\rightarrow x \\ x &= \frac{35 \times 1}{44} = 0,795 \text{ mol de CO}_2 \end{aligned}$$

Assim, para gerar 3,5 g/L de CO<sub>2</sub>, será necessário 35 g em 10 L, ou seja, 0,795 mol de CO<sub>2</sub>. Tendo em consideração que 1 mol de sacarose origina 4 mol de CO<sub>2</sub>, então:

$$\begin{aligned} 1 \text{ mol de sacarose} &\rightarrow 4 \text{ mol de CO}_2 \\ x \text{ mol de sacarose} &\rightarrow 0,795 \text{ mol de CO}_2 \\ x &= \frac{1 \times 0,795}{4} = 0,199 \text{ mol de sacarose} \end{aligned}$$

Sabendo que a massa molar da sacarose é 342,2965 g/mol, temos:

$$\begin{aligned} 1 \text{ mol de sacarose} &\rightarrow 342,2965 \text{ g} \\ 0,199 \text{ mol de sacarose} &\rightarrow x \\ x &= \frac{0,199 \times 342,2965}{1} = 68,07 \text{ g de sacarose} \end{aligned}$$

Uma vez que o açúcar amarelo contém aproximadamente 93 % de sacarose, é necessário adicionar mais 7 % de açúcar amarelo para ter a sacarose necessária, assim temos:

$$\begin{aligned} 68,07 \text{ g de açúcar amarelo} &\rightarrow 93 \% \text{ de sacarose} \\ x \text{ g de açúcar amarelo} &\rightarrow 100 \% \text{ de sacarose} \\ x &= \frac{68,07 \times 93}{100} = 73,2 \text{ g de açúcar amarelo} \end{aligned}$$

Desta forma, conclui-se que para obter 3,5 g/L de CO<sub>2</sub> será necessário adicionar cerca de 73,2 g de sacarose.

## II-B Cálculo da quantidade de mosto a adicionar

No ensaio Bottle 5.4, por exemplo, em vez de açúcar amarelo adicionou-se mosto. Sendo o objetivo final obter uma concentração de 5,2 g/L de  $CO_2$ , e supondo que a cerveja base contém 1,7 g/L de  $CO_2$ , será necessário gerar cerca de 3,5 g/L de  $CO_2$ , assim:

$$\begin{aligned} 1 \text{ L de cerveja} &\rightarrow 3,5 \text{ g de } CO_2 \\ 10 \text{ L de cerveja} &\rightarrow x \text{ de } CO_2 \\ x &= \frac{10 \times 3,5}{1} = 35 \text{ g de } CO_2 \end{aligned}$$

Sabendo que a massa molar do  $CO_2$  é de 44,01 g/mol, vem que:

$$\begin{aligned} 44 \text{ g} &\rightarrow 1 \text{ mol} \\ 35 \text{ g} &\rightarrow x \\ x &= \frac{35 \times 1}{44} = 0,797 \text{ mol de } CO_2 \end{aligned}$$

Assim, para gerar 3,5 g/L de  $CO_2$ , será necessário 35 g em 10 L, ou seja, 0,797 mol de  $CO_2$ .

Posteriormente, tendo em conta os resultados de uma análise de quantificação de açúcares realizada ao mosto pela empresa, procedeu-se aos cálculos da concentração de  $CO_2$  presente no mosto. Na tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos.

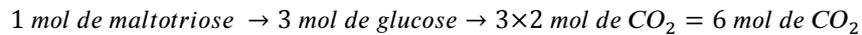
**Tabela I.** Resultados dos cálculos realizados para a obtenção da concentração de  $CO_2$  que os açúcares do mosto tem capacidade de produzir

	<b>g/L</b>	<b>Massa molar (g/mol)</b>	<b><math>CO_2</math> (mol)</b>	<b>Açúcar (mol/L)</b>	<b><math>CO_2</math> (mol/L)</b>
<b>Frutose</b>	2,9	180,1559	2	0,016	0,032
<b>Glucose</b>	18	180,16	2	0,100	0,200
<b>Sacarose</b>	4,5	342,2965	4	0,013	0,053
<b>Maltose</b>	90	342,3	4	0,263	1,052
<b>Maltotriose</b>	25,3	504,437	6	0,050	0,301

No mosto os açúcares fermentescíveis são a frutose, glucose, sacarose (frutose e glucose), maltose (duas glucoses) e maltotriose (três glucoses). Com a concentração presente no mosto de cada um destes açúcares, e com a massa molar de cada um determinou-se a quantidade de açúcar presente em mol por litro. Por exemplo, para a frutose:

$$Frutose \left( \frac{mol}{L} \right) = \frac{\text{concentração} \left( \frac{g}{L} \right)}{\text{massa molar} \left( \frac{g}{mol} \right)} = \frac{2,9}{180,1559} = 0,016 \frac{mol}{L}$$

Tendo em consideração que 1 mol de uma hexose (frutose ou glucose) origina 2 mol de  $CO_2$ , efetuou-se os cálculos para obter a quantidade desse composto gerado por cada açúcar presente no mosto. Por exemplo, para a maltotriose que é composto por três moléculas de glucose:



De seguida, determinou-se a concentração de  $CO_2$  em mol/L através da multiplicação entre a quantidade de  $CO_2$  e a quantidade de açúcares, calculados anteriormente. Por exemplo, para o  $CO_2$  que vem da frutose:

$$CO_{2 \text{ Frutose}} = 0,016 \times 2 = 0,032 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Após obter a quantidade de  $CO_2$  originada pelos açúcares do malte, somou-se a sua totalidade, o que resultou em:

$$CO_2 = 1,64 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Com este valor, e sabendo que são necessários 0,797 mol de  $CO_2$ , temos então:

$$1,64 \text{ mol de } CO_2 \rightarrow 1000 \text{ mL de mosto}$$

$$0,797 \text{ mol de } CO_2 \rightarrow x \text{ mL de mosto}$$

$$x = \frac{0,797 \times 1000}{1,64} = 485,85 \text{ mL}$$

Desta forma, conclui-se que para obter 3,5 g/L de  $CO_2$  será necessário adicionar cerca de 486 mL de mosto.

### **II-C Cálculo da quantidade de levedura WLP400 a adicionar**

No ensaio Bottle 4.1, por exemplo, utilizou-se a levedura WLP400, e para saber ao certo a quantidade de levedura a adicionar realizou-se previamente uma contagem de células, a qual indicou que teria cerca de  $1575 \times 10^6$  cel/ g (28 % são células mortas).

Os graus de Plato são expressos em w/w, ou seja, g por 100 g. Assim, uma vez que será adicionada a quantidade de 100,4 g de sacarose em 12 L (que são aproximadamente 12000 g), os graus de Plato serão de:

$$^{\circ}P = \frac{100,4 \text{ g}}{12087,72 \text{ g}} = \frac{100,4}{120,8772} \times \frac{\text{g}}{100 \text{ g}} = 0,83 \text{ }^{\circ}P$$

Sabendo que 1 milhão de células de levedura correspondem a 1  $^{\circ}P$ , e será adicionado apenas 0,8  $^{\circ}P$ , será então necessário adicionar 0,8 milhão de células por grama. Como se sabe que a levedura tem cerca de  $1134 \times 10^6$  de células por grama (retirando a percentagem das células mortas), então:

$$C_i V_i = C_f V_f \Leftrightarrow 1134 \text{ milhões de cel/g} \times V_i = 0,83 \times 12000 \text{ mL} \Leftrightarrow V_i = 8,8 \text{ mL}$$

Desta forma, conclui-se que será necessário adicionar uma quantidade de aproximadamente 8,8 mL para converter a quantidade de açúcar adicionada à cerveja.

### **II-D Cálculo da quantidade de levedura Safbrew a adicionar**

Nas instruções de utilização desta levedura, sugeria fosse reidratada colocando a porção desejada num volume de água 10 vezes superior ao seu peso. Adicionalmente, aconselhava a utilização entre 2,5 g/hL a 5 g/hL. Assim optou-se por adicionar 5 g/hL na cerveja, ou seja:

$$5 \frac{\text{g}}{\text{hL}} \times \frac{\text{hL}}{10^2 \text{ L}} = 0,05 \text{ g/L}$$

A quantidade total de cerveja que se utilizou tinha cerca de 10 L, então temos:

$$\text{Se } 0,05 \text{ g} \rightarrow 1 \text{ L},$$

$$\text{então } 0,5 \text{ g} \rightarrow 10 \text{ L}$$

Como sugeria colocar a levedura em água dez vezes superior ao seu peso, e tendo em conta que 1 g é aproximadamente 1 mL, adicionou-se 5 mL aos 0,5 g. Para prevenir, optou-se por dobrar as quantidades (1 g em 10 mL), de forma a tirar mais certamente os 5 mL de levedura.