



**Sara Filipa Lucas Domingues**

Licenciada em Nutrição Humana e Qualidade Alimentar

**Avaliação da eficácia da utilização de  
estabilizantes na diminuição da  
turvação da cerveja**

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

**Orientadora:** Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz  
Fernando, Professora Associada, Faculdade de Ciências  
e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

**Co-Orientadora:** Engenheira Cátia Brás, Empresa

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte - FCTNOVA

Arguente: Prof. Doutora Ana Lúcia Monteiro Durão Leitão - FCTNOVA

Vogal: Prof. Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando - FCTNOVA



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Março 2019



“Avaliação da eficácia da utilização de estabilizantes na diminuição da turvação da cerveja” © Sara Filipa Lucas Domingues, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Universidade Nova de Lisboa.

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

## AGRADECIMENTOS

À Doutora Ana Luísa Fernando, minha orientadora, que apesar de ter uma vida bastante preenchida, fez sempre o esforço para me acompanhar. Agradeço-lhe todas as palavras de motivação e toda a sua boa disposição, contribuindo para o sucesso deste trabalho.

À Doutora Guida Tralhão, que foi a principal motivação de ter abraçado este desafio. Obrigada pelas suas palavras de motivação, pela força, apoio e incentivo transmitidos, que nunca me fizeram desistir ao longo deste percurso.

A toda a minha família e amigos que contribuíram e acompanharam a minha formação académica, pela força e presença em todos os momentos.

A todas as minhas colegas da Agroeno, pela motivação e força diária que me transmitiram. Agradeço-lhes também toda a paciência e compreensão que tiveram comigo durante estes meses.

À Engenheira Cátia Brás, responsável pelo projecto na Empresa.

## RESUMO

O presente trabalho desenvolveu-se no âmbito do estágio integrado no Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar, lecionado na Faculdade de Ciências e Tecnologias, da Universidade Nova de Lisboa, tendo este decorrido na Empresa X, na Zona Centro do País.

O tema relaciona-se com a turvação da cerveja, um dos principais problemas com que se depara a indústria cervejeira. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da utilização de estabilizantes, empregues de modo a diminuir a turvação da cerveja. Como tal, foi efetuada uma recolha de dados de turvação em três fases de produção: guardas, tanques de cerveja filtrada e produto acabado. Para além da turvação, nas guardas foram também avaliados dados de Estabilidade Coloidal.

Posto isto, foram comparados os resultados de turvação antes e depois da aplicação de Brewsclarex® em mostos, que foi utilizado para substituir a papaínase, que era utilizada em trasfega à guarda. Para cumprimento ao objetivo, foram avaliados 5 Tratamentos (I, II, III, IV e V), aplicados a Cerveja Nacional e Cerveja de Exportação, separadamente. Com estes tratamentos pretendeu-se avaliar qual seria o mais eficaz em termos de diminuição da turvação.

Relativamente à Estabilidade Coloidal, verificou-se um aumento em todos os Tratamentos aplicados nas guardas, o que indica uma diminuição a nível de estabilidade do produto. Uma vez que na filtração seguinte (ao nível dos tanques de cerveja filtrada) são adicionados estabilizantes (Sílica-gel, papaínase, manucol e PVPP) com o objectivo remover as partículas responsáveis por causar turvação na cerveja e assegurar a estabilidade do produto final, seria então importante avaliar a EC a nível do produto final.

De um modo geral, verificou-se que na maioria dos casos, em que a turvação tinha tendência a diminuir, se destacava a aplicação de papaínase, bem como do BrewsClarex, principalmente em Cerveja de Exportação. No entanto, nos casos em que se começou a utilizar BrewsClarex em mostos e a retirar a papaínase em filtro, a turvação aumentou. A substituição de papaínase em trasfega à guarda por BrewsClarex, em mostos, não revelou eficácia em termos de diminuição da turvação, à excepção do Tratamento V, onde a turvação diminuiu.

A nível da Cerveja de Exportação, é indispensável a utilização de PVPP em filtro, utilizado como estabilizante na indústria cervejeira. Este adsorve especificamente a maioria dos compostos fenólicos activos (polifenóis e taninos), construindo ligações de hidrogénio.

O tratamento que demonstrou ser mais eficaz para a diminuição da turvação da Cerveja Nacional e Cerveja de Exportação foi o Tratamento V; em que na Cerveja Nacional diz respeito à mistura de BrewsClarex (em mosto) e manucol em filtro; e na Cerveja de Exportação inclui BrewsClarex (em mosto), sílica-gel, PVPP e papaínase (em filtro).

**TERMOS CHAVE:** Cerveja, Turvação, Estabilidade Coloidal, Processo Produtivo, Auxiliares Tecnológicos

## ABSTRACT

This work was developed within the scope of the Master's Degree in Technology and Food Safety, taught at the Faculty of Sciences and Technologies, Universidade Nova de Lisboa, which took place at Company X, in the Central Zone of the Country.

The theme is related to the turbidity of beer, one of the main problems facing the brewing industry. The main objective of this work was to evaluate the effectiveness of the use of stabilizers, used in order to reduce the turbidity of beer. As such, turbidity data were collected in three production phases: guards, filtered beer tanks and finished product. In addition to the turbidity, the guards also evaluated Colloidal Stability data.

After that, turbidity results were compared before and after the application of Brewsclarex® to musts, which was used to replace papainase, which was used in guard racking. To fulfil these objective, were avaliated 5 treatments (I, II, III, IV and V), applied to the National Beer and Export Beer, separately. With these treatments it was intended to evaluate which would be the most effective in terms of decreasing turbidity.

For colloidal stability, there was an increase in all treatments applied to the guards, which indicates a decrease in the level of product stability. Since stabilizers (silica gel, papain, manucol and PVPP) are added in the next filtration (at the level of the filtered beer tanks) in order to remove the particles responsible for causing turbidity in the beer and to ensure the stability of the final product, it would be it is therefore important to assess EC at the level of the final product.

In general, it was found that in the majority of cases, in which the turbidity tended to decrease, the application of papain, as well as of BrewsClarex, mainly in Export Beer, was emphasized. However, in cases where BrewsClarex was used in musts and to remove the papain in the filter, the turbidity increased. Replacement of papain in racking by BrewsClarex in musts did not show efficacy in terms of decreased turbidity, except for Treatment V, where turbidity declined.

In terms of Export Beer, it is indispensable to use PVPP in filter, used as stabilizer in the brewing industry. It specifically adsorbs most of the active phenolic compounds (polyphenols and tannins), building hydrogen bonds.

The treatment that proved to be most effective for the reduction of the turbidity of the National Beer and Export Beer was Treatment V; in which in the National Beer refers to the mixture of BrewsClarex (in must) and manucol in filter; and in the Beer of Exportation includes BrewsClarex (in must), silica gel, PVPP and papain (in filter).

**KEY WORDS:** Beer, Turbidity, Colloidal Stability, Productive Process, Processing Aids.

## Índice Geral

1	Introdução.....	1
1.1	ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS .....	1
1.2	METODOLOGIA DE ESTUDO.....	1
1.3	ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO.....	1
2	Produção de Cerveja.....	3
2.1	BREVE HISTORIAL DA PRODUÇÃO E CONSUMO DE CERVEJA .....	3
2.2	PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CERVEJA .....	9
2.2.1	MATÉRIAS-PRIMAS .....	9
2.3	PROCESSO PRODUTIVO.....	11
2.3.1	Brassagem .....	13
2.3.2	Fermentação .....	14
2.3.3	Filtração.....	16
2.4	TIPOS DE CERVEJAS.....	16
2.5	ASPETOS DE QUALIDADE E PROPRIEDADES .....	17
2.5.1	Cor.....	18
2.5.2	pH .....	18
2.5.3	Sabor e Odor .....	19
2.5.4	Espuma .....	20
2.5.5	Turvação.....	20
2.6	Utilização de estabilizantes na produção de cerveja .....	22
2.6.1	Papaína .....	22
2.6.2	Sílica-Gel .....	23
2.6.3	POLIVINILPOLIPIRROLIDONA .....	23
2.6.4	ALGINATO DE PROPILENO-GLICOL.....	24
2.6.5	BREWS CLAREX® .....	24
3	Metodologia Experimental.....	26
3.1	APRESENTAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA X.....	26
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS .....	27
3.2.1	Delineamento Experimental .....	27
3.2.2	Determinação da Turvação .....	31

---

3.2.3	Determinação da Estabilidade Coloidal .....	31
3.2.4	Tratamento Estatístico.....	32
4	Apresentação e Discussão de resultados.....	33
4.1	Guardas .....	33
4.2	Tanques de Cerveja Filtrada .....	39
4.2.1	Cerveja Nacional .....	39
4.2.2	Cerveja de Exportação .....	51
4.3	Produto Acabado.....	64
4.3.1	Cerveja Nacional .....	64
4.3.2	Cerveja de Exportação .....	74
5	Avaliação Global dos resultados e Conclusões .....	86
	Referências Bibliográficas .....	90
	Anexo I – Determinação da Turvação.....	97
	Anexo II – Determinação da Estabilidade Coloidal .....	99

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 – Países com maior produção de cerveja em bilhões de litros, em 2017 (Fonte: <a href="https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/EDN-20180803-1">https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/EDN-20180803-1</a> ) .....	5
Figura 2.2 – Consumo de cerveja, por região, no ano de 2017 (Fonte: <a href="https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2018/1220_01.html">https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2018/1220_01.html</a> ) .....	5
Figura 2.3 - Processo de fabricação de cerveja (Adaptado de: <i>Belgian Craft Brewers, 2018</i> ). .	12
Figura 3.1 - Fluxograma representativo do processo produtivo de cerveja.....	27
Figura 4.1 - Comparação da Turvação °90 entre o Tratamento III (Rosa) e IV (Laranja) nas Guardas.....	33
Figura 4.2 – Comparação da Turvação °90 entre o Tratamento III (Rosa) e V (Amarelo) nas Guardas.....	34
Figura 4.3 – Comparação da Turvação °90 entre o Tratamento IV (Laranja) e V (Amarelo) nas Guardas.....	34
Figura 4.4 – Comparação da Estabilidade Coloidal entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) nas guardas .....	35
Figura 4.5 – Comparação da Estabilidade Coloidal entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) nas guardas.....	35
Figura 4.6 – Comparação da Estabilidade Coloidal entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) nas guardas.....	36
Figura 4.7 - Evolução da Turvação durante os Tratamentos III (Rosa), IV (Laranja) e V (Amarelo) nas guardas.....	38
Figura 4.8 – Evolução da Estabilidade Coloidal durante os Tratamentos III (Rosa), IV (Laranja) e V (Amarelo) nas guardas .....	38
Figura 4.9 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja Nacional) .....	39
Figura 4.10 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Rosa) (Cerveja Nacional) .....	40
Figura 4.11 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	41
Figura 4.12 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	41
Figura 4.13 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Rosa) e III (Rosa) (Cerveja Nacional).....	41
Figura 4.14 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	42
Figura 4.15 – Comparação da Turvação ° 90 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	42

---

Figura 4.16 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	43
Figura 4.17 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	44
Figura 4.18 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	44
Figura 4.19 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja Nacional) .....	45
Figura 4.20 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja Nacional).....	46
Figura 4.21 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	46
Figura 4.22 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	47
Figura 4.23 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	47
Figura 4.24 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	48
Figura 4.25 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	48
Figura 4.26 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	49
Figura 4.27 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	49
Figura 4.28 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	50
Figura 4.29 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja de Exportação) .....	51
Figura 4.30 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação) .....	52
Figura 4.31 - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	52
Figura 4.32 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	53
Figura 4.33 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação) .....	54
Figura 4.34 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	54
Figura 4.35 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	55

---

---

Figura 4.36 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	55
Figura 4.37 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	56
Figura 4.38 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	56
Figura 4.39 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja de Exportação) .....	57
Figura 4.40 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação) .....	58
Figura 4.41 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	58
Figura 4.42 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	59
Figura 4.43 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação) .....	60
Figura 4.44 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	60
Figura 4.45 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação).....	61
Figura 4.46 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	61
Figura 4.47 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	62
Figura 4.48 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	62
Figura 4.49 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja Nacional) .....	64
Figura 4.50 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja Nacional).....	65
Figura 4.51 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	65
Figura 4.52 - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	65
Figura 4.53 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja Nacional) .....	66
Figura 4.54 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	66
Figura 4.55 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	66

---

---

Figura 4.56 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	67
Figura 4.57 - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	67
Figura 4.58 - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	67
Figura 4.59 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja Nacional) .....	68
Figura 4.60 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja Nacional).....	69
Figura 4.61 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	69
Figura 4.62 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	70
Figura 4.63 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja Nacional) .....	70
Figura 4.64 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	71
Figura 4.65 - Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	71
Figura 4.66 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional).....	72
Figura 4.67 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	73
Figura 4.68 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional).....	73
Figura 4.69 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja de Exportação) .....	74
Figura 4.70 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação) .....	75
Figura 4.71 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	75
Figura 4.72 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	76
Figura 4.73 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação) .....	76
Figura 4.74 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	77
Figura 4.75 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	77

---

Figura 4.76 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	78
Figura 4.77 - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	78
Figura 4.78 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	79
Figura 4.79 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja de Exportação) .....	80
Figura 4.80 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação) .....	80
Figura 4.81 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	81
Figura 4.82 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	81
Figura 4.83 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação) .....	82
Figura 4.84 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	83
Figura 4.85 – Comparação da Turvação °25 nos Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	83
Figura 4.86 – Comparação da Turvação °25 nos Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	84
Figura 4.87 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação) .....	84
Figura 4.88 – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação) .....	85

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1– Estatísticas provisórias nacionais de 2017 dos Associados dos Cervejeiros de Portugal (Fonte: APCV, 2018).....	6
Tabela 2.2– Associados dos Cervejeiros de Portugal e respectivas marcas .....	7
Tabela 3.1– Parâmetros de análise e respectivas amostras .....	28
Tabela 3.2 - Estabilizantes utilizados no processo produtivo da cerveja entre Dezembro de 2017 e Março de 2018 .....	28
Tabela 3.3– Análises efetuadas à cerveja e respectivos métodos analíticos.....	31
Tabela 5.1– Dados relativos à Turvação °90 e EC nas Guardas .....	86
Tabela 5.2– Dados relativos à Turvação °90 e °25 nos TCF's (Cerveja Nacional) .....	86
Tabela 5.3 - Dados relativos à Turvação °90 e °25 nos TCF's (Cerveja de Exportação).....	87
Tabela 5.4 – Dados relativos à Turvação °90 e °25 em Produto Acabado (Cerveja Nacional)..	87
Tabela 5.5 – Dados relativos à Turvação °90 e °25 em Produto Acabado (Cerveja de Exportação) .....	88

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANFABRA – Associação Nacional de Fabricantes de Bebidas Sem Álcool

APG - Alginato de propileno glicol

APCV – Associação Portuguesa dos Produtores de Cerveja

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

DMS – Sulfato de dimetilo

EBC – European Brewery Convention

EC – Estabilidade coloidal

IFS – International Featured Standards

IVA – Imposto sobre o valor acrescentado

MDD – Marcas de Distribuição

NaCl – Cloreto de sódio

NTU – Unidades de turbidez nefelométrica

pH – Potencial hidrogeniónico

PVPP – Polivinilpolipirrolidona

SCC – Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, S.A.

SiOH – Grupos de silanol

TAF – Teste de Álcool a Frio

UE – União Europeia

°C – Graus *Celsius*

°P – Graus Plato



## 1 INTRODUÇÃO

No presente capítulo é feita uma abordagem inicial ao tema da dissertação “Avaliação da eficácia da utilização de estabilizantes na diminuição da turvação da cerveja” apresentando-se, como tal, um enquadramento e objetivos do estudo, a metodologia de estudo utilizada e a estrutura desta dissertação.

### 1.1 ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS

Esta dissertação enquadra-se no âmbito do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar, lecionado na Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa. O estágio teve lugar na Empresa X, localizada na zona Centro do País.

Desde início que este trabalho se mostrou ser de elevado interesse e pertinência não só para enriquecimento pessoal, como também para a empresa, uma vez que esta pretendia tornar a sua atuação mais sustentável.

Este trabalho relaciona-se com o facto de a empresa em questão ter substituído um dos seus auxiliares tecnológicos (papaínase), que desempenha um papel fulcral na estabilidade de proteínas, pelo BrewsClarex®. Tornou-se então imperativo avaliar qual a eficácia de cada um deles na diminuição da turvação da cerveja, um dos grandes problemas com que se depara esta indústria.

De modo a avaliar a eficácia da utilização de auxiliares tecnológicos na diminuição da turvação da cerveja, delineou-se como objetivo comparar os resultados obtidos, em termos de turvação, antes de recorrer ao uso de BrewsClarex® e atualmente.

### 1.2 METODOLOGIA DE ESTUDO

Este estudo pretendeu avaliar se os auxiliares tecnológicos utilizados atualmente eram eficazes em termos de evitar a ocorrência de turvação na cerveja. Para isto foi necessário comparar dados já existentes e respeitantes à utilização de sílica-gel e papaínase, com dados atuais, em que se recorre a BrewsClarex®, procurando melhorias constantes nos processos de produção.

Como irá ser explicado ao longo deste trabalho, recorreu-se a duas metodologias analíticas para avaliar a turvação/turbidez na cerveja, sendo elas: Determinação da Turvação e Determinação da Estabilidade Coloidal (TAF). É de notar que estas metodologias foram aplicadas em guardas, tanques de cerveja filtrada e produtos acabados.

### 1.3 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação encontra-se dividida em cinco capítulos:

1. Introdução;
2. Produção de cerveja;
3. Materiais e Métodos;

4. Apresentação e Discussão de Resultados;
5. Conclusões.

No primeiro capítulo, **Introdução**, apresenta-se o enquadramento e objetivos, metodologia de estudo e a estrutura da dissertação.

No segundo capítulo, **Produção de Cerveja**, diz respeito ao desenvolvimento da arte da produção de cerveja, menciona aspetos relacionados com o consumo e exportação deste produto, e faz referência às matérias-primas, ao processo produtivo propriamente dito, tipos de cerveja, bem como faz referência aos aspetos de qualidade e propriedades que devem ser tidos em conta. Por fim, são mencionadas as substâncias adicionadas durante o processo produtivo, de modo a que haja estabilidade de proteínas e polifenóis.

No terceiro capítulo, **Materiais e Métodos**, é feita uma breve apresentação e caracterização da empresa onde teve lugar o estágio. Refere-se também aos materiais e metodologias que foram utilizados durante este estudo.

O quarto capítulo, **Apresentação e Discussão de Resultados**, menciona os resultados obtidos e a sua discussão.

Por fim, o último capítulo, **Conclusões**, reúne considerações finais e possíveis propostas para trabalhos futuros.

## 2 PRODUÇÃO DE CERVEJA

A cerveja é designada como “a bebida obtida por fermentação alcoólica, mediante leveduras seleccionadas 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” (Portaria N°1/96 de 3 de Janeiro).

O fabrico de cerveja é uma atividade humana que existe desde o início da civilização, tempos que remontam ao período neolítico. A cerveja é um produto com propriedades físico-químicas muito características e a evolução da produção de cerveja é vista como um exemplo dos avanços científicos e tecnológicos, que, simultaneamente, se reflectem na economia e os rituais das pessoas (Meusdoerffer, 2009).

### 2.1 BREVE HISTORIAL DA PRODUÇÃO E CONSUMO DE CERVEJA

Acredita-se que a produção de cerveja talvez seja tão antiga como a própria agricultura, sabendo-se apenas que o Homem tem conhecimento do processo de fermentação há mais de 10000 anos, obtendo também nessa época as primeiras bebidas alcoólicas. A descoberta da cerveja deu-se passado pouco tempo depois de surgir o pão, uma vez que os sumérios molhava a massa do pão e esta fermentava, dando origem a uma espécie de cerveja, considerada como bebida divina (APCV, 2018).

Tendo em conta estudos arqueológicos realizados no Sudão, comprovou-se que há cerca de 7000 a.C., os povos locais produziam uma bebida semelhante à cerveja, a partir de sorgo. A prova arqueológica mais concreta que existe relativamente à produção de cerveja provém da Suméria e trata-se de inscrições numa pedra, relativamente a um cereal utilizado para produzir cerveja (APCV, 2018).

Na antiguidade, a cerveja era feita por padeiras, tendo em conta a natureza das matérias-primas: grãos de cereais e leveduras, à semelhança do pão, que também estava a cargo das mulheres. No período babilónico, existiam cerca de duas dezenas de diferentes tipos de cerveja, com recurso a plantas aromáticas, mel, cevada trigo. A produção de cerveja assumia uma elevada importância para os egípcios, tendo em conta que existia um funcionário responsável por controlar e manter a qualidade da cerveja produzida, bem como a criação de hieróglifos relacionados com a cerveja (APCV, 2018).

Ao terem aprendido com os egípcios a arte de produzir cerveja, os gregos ensinaram-na aos romanos. No entanto, em 500 a.C. e no período seguinte, os gregos e os romanos davam preferência ao vinho, conhecida como a “bebida dos deuses” (APCV, 2018).

Relativamente à Idade Média, a produção e consumo de cerveja sofreram um grande impulso, devido à influência dos mosteiros, onde a cerveja era produzida, melhorada e vendida. Ainda neste período também se manteve o hábito de produzir cerveja em casa, tarefa que continuava a ser da responsabilidade das mulheres. Em algumas zonas geográficas, a cerveja chegou a assumir uma maior popularidade do que a água, uma vez que as práticas sanitárias eram

precárias, tornou-se mais seguro beber cerveja do que água. Apesar de muitas limitações, a cerveja continuou a ganhar importância da sociedade medieval, tendo servido como alimento, forma de pagamento, moeda de troca, entre outros (APCV, 2018).

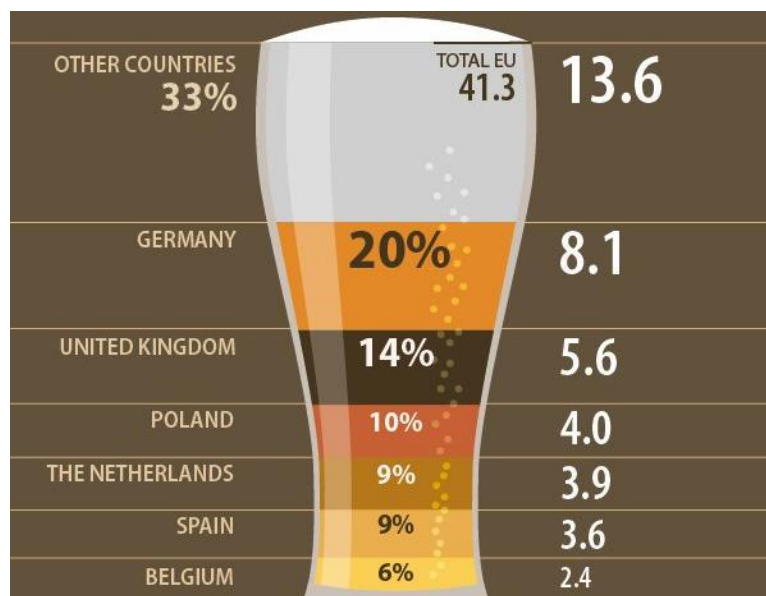
Foram necessárias duas invenções para que a produção de cerveja estivesse presente na Era Moderna: a máquina a vapor e a refrigeração artificial, pois já estava provado que a qualidade da cerveja estava dependente de determinadas temperaturas. Com isto, foi possível a produção e consumo de cerveja ao longo de todo o ano (APCV, 2018).

Durante o século XVII, apareceram diversos tipos de cerveja, sendo que cada variedade era definida pelos ingredientes utilizados, bem como pela qualidade da água utilizada na formulação. O ano de 1876 assumiu uma grande importância quer para a indústria cervejeira, quer para o Homem, uma vez que os estudos de Louis Pasteur sobre o fermento e os microrganismos deram início à conservação dos alimentos, graças à pasteurização. Para além disto, a descoberta de diferentes leveduras deu origem a novos estilos de cerveja (APCV, 2018).

Atualmente, a indústria cervejeira pode ser caracterizada por duas grandes tendências: grandes empresas com produtos vocacionados para o consumo em massa e pequenas/médias empresas que desenvolvem produtos mais caros mas baseados em tradições locais (APCV, 2018).

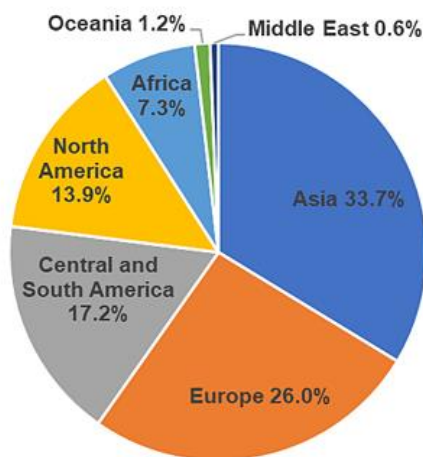
Em 2012, a União Europeia era o segundo maior produtor de cerveja do mundo, com um volume de cerca de 390 milhões de hectolitros de cerveja, sendo que a China era o maior produtor de cerveja, com um volume de 443 hectolitros (Berkhout et al., 2013). Nesse ano, as exportações de cerveja para fora da UE perfizeram um total de 3.2 bilhões de euros, enquanto que as importações para a UE foram de 234 milhões de euros. Em 2012, os maiores exportadores de cerveja da União Europeia foram a Alemanha (15,7 milhões de hectolitros), os Países Baixos (14,7 milhões de hectolitros) e, por fim, a Bélgica (11,7 milhões de hectolitros) (Berkhout et al., 2013). Em 2017, 40 bilhões de litros de cerveja com álcool foram produzidos na União Europeia (UE), cerca de 1,2 bilhão a mais que em 2016. Para além disso, a UE produziu cerca de 900 milhões de litros de cerveja, com menos de 0,5% de álcool ou sem teor alcoólico (EUROSTAT, 2018). Como é possível observar na **Figura 2.1**, o país da Europa que mais cerveja produziu em 2017 foi a Alemanha, correspondendo a 20% da produção da UE, o que equivale a uma produção de 8,1 bilhões de litros. Segue-se o Reino Unido com uma produção de 14%, a Polónia com 10%, Espanha com 9%, Holanda com 9% e, por fim, a Bélgica, com 6% (EUROSTAT, 2018). Relativamente ao ano de 2016, a Holanda foi o país que obteve o maior aumento na produção de cerveja com álcool (cerca de 48%), seguido pelo Reino Unido (+ 14%) e Portugal (+ 11%) (EUROSTAT, 2018). Relativamente à exportação, a Holanda é o país da UE que mais cerveja exporta, sendo que em 2017 exportou 1,9 mil milhões de litros, ou seja, metade da sua produção. Para além da Holanda, também a Bélgica, Alemanha, França e o Reino Unido pertencem ao grupo de países da União Europeia que mais cerveja exportam. Os principais destinos são os Estados Unidos, China, Canadá e Coreia do Sul (EUROSTAT, 2018).

---



**Figura 2.1** – Países com maior produção de cerveja em biliões de litros, em 2017 (Fonte: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/EDN-20180803-1>)

Também no ano de 2017, o consumo de cerveja rondou aproximadamente os 186,72 milhões de hectolitros, marcando uma queda de 0,2% em relação a 2016. O país que permaneceu no topo como maior consumidor de cerveja no mundo foi a China, apesar de se registar um decréscimo de 3,9% em relação ao ano anterior (2016) (Holdings, 2018).



**Figura 2.2** – Consumo de cerveja, por região, no ano de 2017 (Fonte: [https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2018/1220\\_01.html](https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2018/1220_01.html))

Através da **Figura 2.2**, pode-se verificar que o consumo anual de cerveja no continente Asiático foi o mais elevado, pelo décimo ano consecutivo, apesar de um decréscimo de 0,8% em relação a 2016. A Ásia contribui com participação de 33,7% no mercado mundial.

Em Portugal, a indústria das bebidas engloba as empresas classificadas no âmbito da divisão 11 da Classificação Portuguesa das Atividades Económicas. O setor está dividido em três segmentos de atividade económica, vinho, cerveja e refrigerantes e água, sendo que a cerveja engloba a produção de cidra, cerveja e malte (Banco de Portugal, 2017). Em 2015, 17% das

empresas da indústria das bebidas faziam parte integrante do setor da exportação, sendo responsáveis por 64% do volume de negócios e 53% do número de pessoas ao serviço desta indústria (Banco de Portugal, 2017). Em 2012, o aumento do IVA de 13 para 23% teve uma influência negativa nas vendas de cerveja, diminuindo o emprego neste sector. De modo a reverter este impacto negativo, as empresas cervejeiras concentraram-se na exportação para países terceiros, assumindo posições em mercados líderes em África e apostando em novas oportunidades em mercados internacionais (Berkhout et al., 2013).

Como resposta à quebra de consumo que ocorria desde 2006, as empresas produtoras de cerveja aumentaram o peso das exportações entre 2009 e 2012, passando de 20 para 40%, principalmente devido ao mercado Angolano. Atualmente, as empresas cervejeiras apostam na diversificação de mercados, nomeadamente o mercado Chinês (APCV, 2018). Em 2017, o sector cervejeiro revelou um grande dinamismo, com influência para o PIB nacional. O mercado interno cresceu cerca de 8% e as exportações aumentaram 12,6%. No caso do consumo *per capita*, este aumentou de 47L (2016) para 51L (2017) (**Tabela 2.1**).

**Tabela 2.1**– Estatísticas provisórias nacionais de 2017 dos Associados dos Cervejeiros de Portugal  
(Fonte: APCV, 2018)

PERÍODO ANUAL	TOTAL 2017	TOTAL 2016
<b>Nº UNIDADES DE PRODUÇÃO (ASSOCIADOS)</b>	<b>9</b>	<b>9</b>
Produção total (milhares de hl)	6990	6475
Produção cerveja c/álcool	6876	6367
Produção cerveja s/álcool	114	109
Mercado Interno - Consumo total (milhares de hectolitros)	5247	4891
Mercado Interno: com álcool	5152	4804
Mercado Interno: sem álcool	95	88
Consumo por habitante (litros)	51	47
Total exportação de cerveja (1000 hl)	1900	1687
Total importação de cerveja (1000 hl)	222	183
Rácio Exportações/Importações	8,6	9,23

Segundo Nielson (2018), mais de 40% do volume de cerveja é consumido nos meses entre Junho e Setembro, considerando as condições climáticas como um dos factores que mais influencia o seu consumo. Com isto, pode concluir-se que a produção de cerveja é um negócio sazonal, sendo que para além das condições climáticas, se alia o facto de ser um período de férias, propício a realização de férias e aumenta o número de turistas e emigrantes em Portugal. A maioria dos consumidores de cerveja são de idades compreendidas entre os 26 e

45, com enfoque para os indivíduos do sexo masculino. De qualquer modo, verifica-se o aumento do consumo de cerveja entre o sexo feminino. As regiões onde o consumo de cerveja é maior são a Grande Lisboa e o Litoral Norte (Nielsen, 2018).

As exportações de cerveja rondam os 200 milhões de litros, valores estes que são sustentados por factores como: boas condições climáticas, eventos e turismo. Também a interpretação de dados da indústria cervejeira relativamente ao ano de 2017, leva a crer que este é um sector em expansão e renovação, uma vez que existem cada vez mais empresas cervejeiras e microcervejeiras a lançar novos tipos de cervejas (APCV, 2018).

Os associados da Associação Portuguesa dos Cervejeiros de Portugal, atualmente designada por Cervejeiros de Portugal, são: Ecm - Empresa de Cervejas da Madeira, Sociedade Unipessoal, Lda; Font Salem - Portugal, SA; SCC - Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, SA; Super Bock Group; Essência d'Alma Lda (Microcervejeira/artesanal); Happyevasion (Microcervejeira/artesanal); Os três cervejeiros, Lda. (Microcervejeira/artesanal); Praxis Cervejas de Coimbra Lda. (Microcervejeira/artesanal); Fábrica de Cervejas Portuense, PRHM TRT Lda. (Microcervejeira/artesanal); Post Scriptum Brewery, Unipessoal, Lda. (Microcervejeira/artesanal); Faustino – Microcervejeira, Lda. (Microcervejeira/artesanal); Poder do Lúpulo – Cervejeiros, Lda (Microcervejeira/artesanal); Beam Park, Lda. (Microcervejeira/artesanal) e Cervejaria Crafters, Lda (Microcervejeira/artesanal). As marcas produzidas por cada associado encontram-se na **Tabela 2.2**.

**Tabela 2.2**– Associados dos Cervejeiros de Portugal e respectivas marcas

<b>Associados</b>	<b>Marcas produzidas</b>
Empresa de Cervejas da Madeira, Sociedade Unipessoal, Lda	Coral, Coral Tónica, Zarco, Sá
FontSalem, SA	Estrella DAMM, Estrella DAMM Inedit, Voll DAMM, Bock DAMM, Free DAMM, Tagus, Cintra, Prima, Top Beer
SCC, SA	Sagres Branca, Sagres Preta, Sagres sem álcool, Sagres Preta sem álcool, Sagres Bohemia Original, Sagres Bohemia Puro Malte, Sagres Bohemia de Trigo, Sagres Bohemia Bock, Sagres Radler, Sagres 0.0% Radler, Sagres Cascade, Imperial, Cergal, Heineken, Desperados, Guinness, Kilkeny e John Smith's.  Sidras: Strongbow; Bandida do Pomar e Old Mout

**Tabela 2.2**– Associados dos Cervejeiros de Portugal e respectivas marcas

<b>Associados</b>	<b>Marcas produzidas</b>
Super Bock Group	Super Bock Original; Super Bock Classic; Super Bock Stout; Super Bock S/Álcool; Super Bock S/Álcool Preta; Super Bock Abadia; Super Bock Green; Super Bock Selecção 1927, Carlsberg; Cristal; Cristal Preta; Cheers; Cheers Preta; Cheers Radler; Marina.
Essência d'Alma Lda	Vadia Trigo, Vadia Loira, Vadia Ruiva, Vadia Preta, Vadia Rubi, Vadia Extra, Vadia Orgânica.
Happyevasion	Rolls Beer Nectar, Rolls Beer Premium, Rolls Beer Special
Os três cervejeiros, Lda	Sovina Amber, Sovina Helles, Sovina IPA, Sovina Stout, Sovina Trigo, Sovina Bock, Sovina Baltic Porter, Sovina Fresh Hops, Sovina Natal
Praxis Cervejas de Coimbra Lda	Praxis Pilsener, Praxis Dunkel, Praxis Ambar, Praxis Weiss
Fábrica de Cervejas Portuense, PRHM TRT Lda	Nortada
Post Scriptum Brewery, Unipessoal, Lda	Post Scriptum
Faustino – Microcervejeira, Lda	Maldita
Poder do Lúpulo – Cervejeiros, Lda	Cinco Chagas
Beam Park, Lda	Xarlie
Cervejaria Crafters, Lda	Pato

## 2.2 PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CERVEJA

No presente capítulo apresentam-se as matérias-primas utilizadas na produção de cerveja, é feita uma descrição do seu processo produtivo, bem como são mencionados aspetos relacionados com a qualidade da cerveja.

### 2.2.1 MATÉRIAS-PRIMAS

A cerveja é uma “bebida aquosa fermentada à base de amido e aromatizada com lúpulo”. Para a fabricação de cerveja, as principais matérias-primas são: água, malte (cevada maltada), lúpulo e levedura.

#### 2.2.1.1 Água

Em termos quantitativos, a água é a matéria-prima mais importante da cerveja, constituindo mais de 90% desta bebida (Krottenthaler & Glas, 2009; Galvão, 1997). A composição química e biológica da água utilizada no processo produtivo tem uma elevada importância, sendo necessário, por vezes, haver tratamento da água (Krottenthaler & Glas, 2009). Cada vez mais, as indústrias produtoras de cerveja adoptam medidas para se tornarem mais sustentáveis em relação ao uso de água, o que se traduz numa otimização dos processos e a adoção de práticas eficientes. Os parâmetros da água de processo mais importantes para serem determinados são: alcalinidade, dureza e pH. (Brewers Association, 2013; Galvão, 1997).

A alcalinidade de uma água define-se como a sua capacidade de reagir quantitativamente com um ácido forte, até um valor definido de pH, sendo os principais componentes da alcalinidade os bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos (Krottenthaler & Glas, 2009). O pH da água durante a produção de cerveja tem influência direta sobre a regulação da atividade enzimática, solubilização de componentes adstringentes, variação da cor e coagulação dos componentes proteicos do mosto (De Keukelerie, 2000). Segundo Jorge (2004), o pH da água deverá estar entre 6,5 e 7,0; se a água for alcalina poderá dissolver grandes quantidades de matérias indesejáveis das cascas e do malte.

Quanto à dureza da água, esta reflete a presença de sais de metais alcalino-terrosos (cálcio, magnésio, bário e estrôncio). A dureza pode ser permanente (não carbonatada) ou temporária (carbonatada). Quando a combinação de iões de cálcio e magnésio com os cloretos, nitratos e sulfatos não sofre decomposição por aquecimento, designa-se por dureza não carbonatada.

Quando o teor de dureza é superior à soma de carbonatos e bicarbonatos alcalinos, dá-se a precipitação do carbonato de cálcio e/ou magnésio e a dureza equivale à alcalinidade total, designa-se por dureza carbonatada. (APDA, 2012; Krottenthaler & Glas, 2009).

O pH é bastante importante, uma vez que condiciona os equilíbrios químicos que ocorrem durante o processo produtivo (Brewers Association, 2013; Galvão, 1997).

### 2.2.1.2 Malte

O malte é designado como a matéria-prima que resulta da germinação de cereais sob condições controladas, sendo normalmente obtido da cevada, através de um processo artificial, onde se controla a germinação da cevada (maltagem) (Kunz, 1999; Zuppardo, 2010;). Consoante a forma como este processo for conduzido, resultam diferentes tipos de malte, o que originará diferentes tipos de cerveja (Kunz, 1999).

O denominado por “corpo da cerveja” é dado pelo malte de cevada. Este pode ser substituído por arroz, milho ou trigo. Quando o “mash” (malte de cevada misturado com água de infusão) é aquecido a 60°C, as enzimas de malte – na sua maioria, amilases-, degradam o amido e proteínas, dando origem a açúcares e péptidos/aminoácidos (De Keukelerie, 2000).

A cevada é empregue na produção de cerveja uma vez que reúne características que justificam a sua utilização, tais como ser rica em amido, conter enzimas, possuir uma casca que confere proteção ao grão no processo de maltagem e confere aroma e sabor característicos (Zuppardo, 2010). É também de notar que a cor da cerveja resulta da cor do malte empregue na formulação (De Keukelerie, 2000).

Os grãos de cevada devem ser grandes, uniformes e de cor uniformemente clara, estando livres de manchas, manchas estas que normalmente simbolizam ataques de microrganismos e que podem ser responsáveis por sabores e odores indesejáveis (Silva & Faria, 2008). Podem ser utilizados grãos crus (“gritz”), que provêm do milho ou do trigo, diferenciando-se da cevada, uma vez que não sofrem maltagem, não contêm enzimas e apresentam um elevado teor de amido. O teor de amido elevado irá reduzir o aparecimento de turvação no produto acabado, pois reduz a capacidade de formação de precipitados (Galvão, 1997; Linko, 1998).

### 2.2.1.3 Lúpulo

O lúpulo comum (*Humulus lupulus*) pertence à família *Cannabaceae*. Entre todas as plantas herbáceas que se foram utilizando ao longo dos tempos, para conferir sabor e para conservar a cerveja, este é utilizado na atualidade e a nível mundial, para a produção de cerveja, em conjunto com outros ingredientes como a água, malte e levedura (Krottenthaler, 2009; Moir, 2000).

O objetivo da adicionar lúpulo na produção de cerveja é a manipulação do aroma e sabor da mesma, uma vez que o aroma da cerveja é influenciado pelos óleos essenciais do lúpulo. A maior contribuição para a amargura da cerveja é da responsabilidade dos iso  $\alpha$ -ácidos. A quantidade de lúpulo adicionada é ajustada consoante o perfil de sabor da cerveja que se pretende produzir, devendo ter em atenção parâmetros como: composição da matéria-prima, variedade do lúpulo empregue, quantidade e tempo de fervura do lúpulo, fermentação, extrato original, atenuação e filtração e estabilização (Krottenthaler, 2009).

O lúpulo não é naturalmente amargo, sendo que o amargor desenvolve-se quando este é fervido durante o processo de fabrico de cerveja. Ao ser adicionado mais tarde, a cerveja torna-

se menos amarga e o seu aroma é mais realçado (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2018).

O lúpulo assume também uma influência positiva na estabilidade da espuma da cerveja. Através da adição tardia de lúpulo é possível aumentar a concentração de  $\alpha$ -ácidos não isomerizados, que apesar de serem pouco solúveis na cerveja, podem aumentar a estabilidade da espuma. Para além disto, a adição de lúpulo também contribui para uma estabilização a nível microbiológico na cerveja, uma vez que as culturas de *Lactobacillus amylolyticus* são intolerantes ao mesmo (Kaltner, 2001).

#### **2.2.1.4 Levedura**

As leveduras utilizadas para a produção de cerveja são do género *Saccharomyces* (Tenge, 2009). As leveduras utilizadas na indústria cervejeira classificam-se de acordo com o local onde ocorre a fermentação e podem ser divididas em duas espécies: *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces pastorianus* (Verdú, 2016).

A *Saccharomyces cerevisiae*, mais utilizada, utiliza ião amónio, ureia e sobretudo aminoácidos presentes no extrato da cevada como fontes de azoto. As suas colónias ficam na parte superior do tanque de fermentação, dando-se a fermentação na superfície do mosto. Este processo pode ocorrer a temperaturas entre 18 a 25°C, sendo também conhecido como fermentação *ale* (Tenge, 2009; Verdú, 2016).

A *Saccharomyces pastorianus* deposita-se no fundo dos tanques, lugar onde ocorre a fermentação dos açúcares presente no mosto. Este processo é conhecido por fermentação *lager* (Verdú, 2016). Neste processo a temperatura de fermentação é mais baixa e dá-se entre 7 a 15°C (Tenge, 2009).

A maioria das diferenças entre estes dois tipos de levedura está relacionada com a sua capacidade fermentativa, taxa de utilização de açúcar, tolerância à temperatura, características de floculação e perfil de voláteis (Tenge, 2009).

Uma manipulação inadequada da levedura resulta em: sabores a sulfureto no produto final, baixa retenção de espuma, gosto amargo desagradável, aumento do valor de pH, diminuição da velocidade de fermentação e maturação, riscos de contaminação com microrganismos indesejáveis, problemas na filtração e turvação elevada na cerveja (Gresser, 2009).

### **2.3 PROCESSO PRODUTIVO**

Cada vez mais a indústria cerveja tem como objetivo produzir uma bebida com características próprias, que satisfaça as necessidades do consumidor e que seja um produto seguro e de qualidade (Teixeira, 2016).

No presente sub-capítulo é feita uma descrição das etapas envolvidas no processo produtivo da cerveja.

O processo produtivo pode-se essencialmente dividir-se em três etapas: brassagem, fermentação e filtração da cerveja, que posteriormente segue para enchimento.

De seguida, é apresentado um fluxograma ilustrativo do processo de produção de cerveja (**Figura 2.3**).

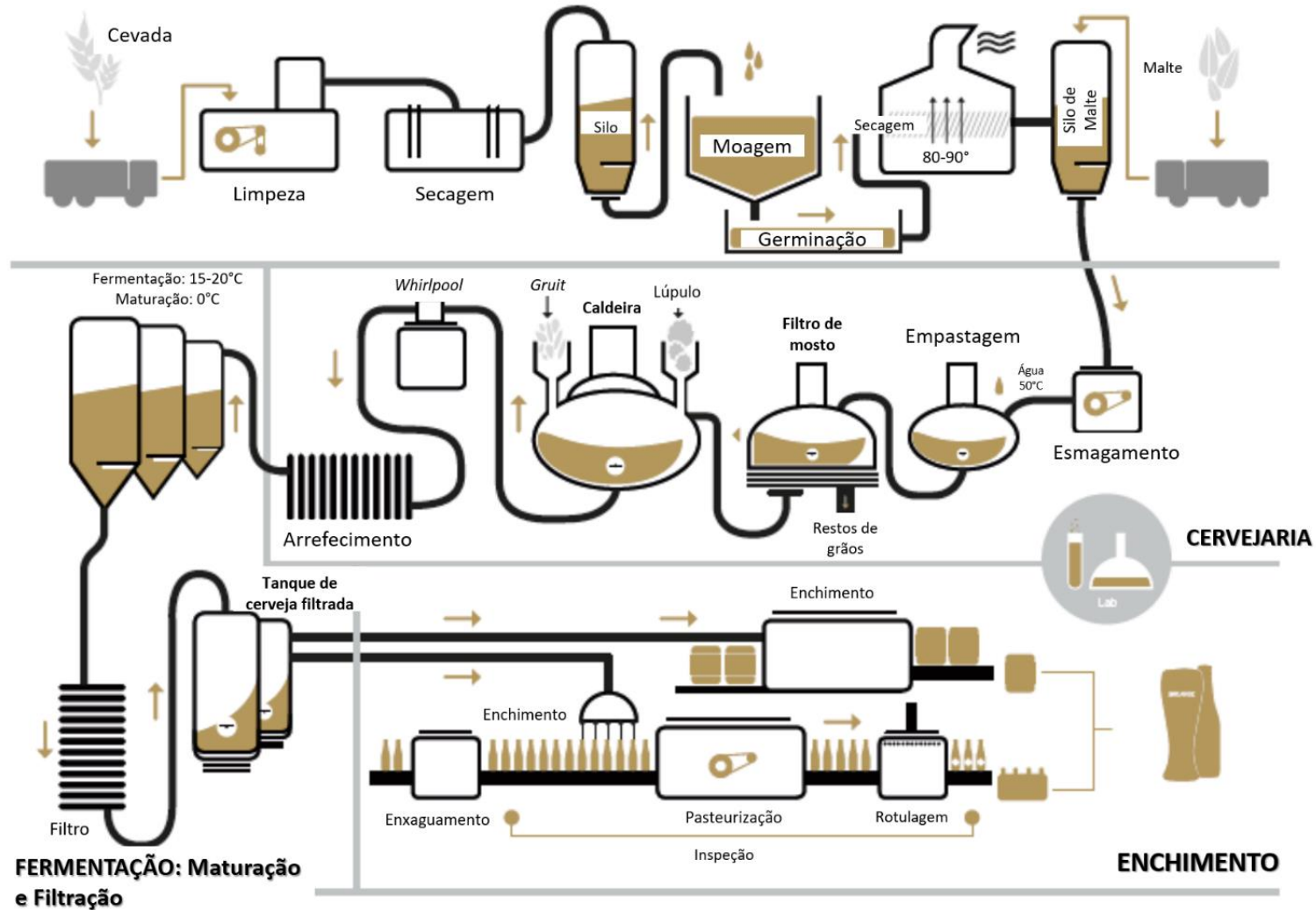


Figura 2.3 - Processo de fabricação de cerveja (Adaptado de: *Belgian Craft Brewers*, 2018).

### 2.3.1 BRASSAGEM

A Brassagem pode ser dividida em etapas como: moagem, empastagem, sacarificação, filtração, ebulição, arrefecimento e oxigenação.

Esta é uma etapa essencial no processo produtivo, uma vez que produz os nutrientes essenciais para a fermentação, sendo abundante em açúcares, aminoácidos, vitaminas, lípidos e iões inorgânicos (Galvão, 1997). É também nesta etapa que são definidas características como a cor, teor alcoólico e amargor (Teixeira, 2016).

Inicialmente, o malte e o “grit” são sujeitos a um processo de limpeza, com o intuito de remover impurezas que possam ser prejudiciais ao processo (Teixeira, 2016).

A primeira etapa diz respeito à moagem dos grãos de malte, sendo considerado um processo físico, uma vez que envolve a quebra da casca dos grãos, transformando o seu conteúdo em farinha. O objetivo desta etapa é que ocorra uma desintegração completa do endosperma dos grãos de malte, de modo a que os elementos que fazem parte dele estejam disponíveis para a ação enzimática, otimizando a extração e conversão dos componentes em substâncias com baixo peso molecular (Carvalho, 2007). Segundo Briggs et al (2004), outros objetivos desta moagem é a separação das cascas para serem utilizadas como material filtrante, obter uma boa clarificação e boa qualidade do mosto filtrado. Os fatores que influenciam a moagem do malte são: qualidade e humidade do malte, tipos de moagem, sistema de clarificação, moinhos utilizados e volume da moagem (Briggs et al., 2004).

Após o malte estar moído, segue-se a próxima etapa, a empastagem do malte, ocorre na caldeira de empastagem. Posto isto, o malte é misturado com água e submetido a aquecimento, não se devendo ultrapassar os 72°C, pois dá-se a inativação de enzimas (Oliveira, 2011).

A empastagem possibilita a ocorrência de reações bioquímicas de desdobramento de moléculas, tendo como objetivos dissolver as substâncias imediatamente solúveis na água e tornar solúveis as substâncias insolúveis (amido e proteínas), através da ação das enzimas do malte. Este processo assume uma elevada importância para ser possível obter um extrato com características adequadas (Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, 2018; Kunze, 1999).

No final, quando se dá a conversão completa do amido em açúcares, obtém-se o mosto (solução de açúcares) (Pinto, 2013). A sacarificação é definida como a última etapa de degradação enzimática do mosto. Todas estas operações têm de ser mantidas sob o controlo de variáveis como pH, temperatura e tempo, uma vez que cada enzima presente no malte só atua em determinada faixa de temperatura e pH (Teixeira, 2016; Venturini Filho, 2010). Também o tipo de empastagem irá depender do tipo e composição de cerveja desejado (Venturini Filho, 2010).

O extrato do mosto apresenta cerca de 10 a 15% de substâncias provenientes do malte e que são solúveis em água, sendo o restante (85 a 90%) formado por produtos de degradação de macromoléculas. Assim, é possível verificar que as amilases convertem o amido em açúcares fermentescíveis – como a maltose-, e em dextrina não fermentável; as proteases produzem

---

péptidos e aminoácidos, através da digestão proteica; e, por fim, as fosfatases libertam ião fosfato orgânico para o mosto (Aquarone et al., 2001).

Segue-se a fase de filtração do mosto, em que este é filtrado com o objetivo de obter um mosto límpido, através da separação da parte insolúvel (dreche ou bagaço de malte) do filtrado e eliminar resíduos dos grãos de malte (Ribeiro & Santos, 2005; Kuck, 2008).

A filtração do mosto pode ser realizada numa tina combinada de brassagem-filtração, filtro-prensa, “*strain master*” ou tina de filtração. Sendo a última um tanque com uma peneira no seu interior e o método mais utilizado (Boulton & Quain, 2008; Kuck, 2008).

A filtração do mosto divide-se em duas fases: filtração do mosto primário e obtenção do mosto secundário. Na primeira filtração, o líquido é filtrado com o auxílio da camada de cascas de malte depositadas na tina de filtração, dando origem ao mosto primário; na segunda filtração, a camada de cascas é lavada com água, de modo a recuperar o extracto líquido que está contido no bagaço após a filtração (Kuck, 2008).

Após a filtração do mosto, procede-se à ebulição do mesmo a uma temperatura até 135°C, que tem como objetivos a solubilização dos compostos aromáticos e dos compostos responsáveis pelo amargor do lúpulo, esterilização do mosto, inativação das enzimas, precipitação de proteínas de elevado peso molecular e concentração do mosto (Eblinger & Narzib, 2012; Ribeiro & Santos, 2005; Teixeira, 2016). É também nesta fase que se procede à adição do lúpulo, que confere amargor à cerveja. Por outro lado, as temperaturas elevadas, requeridas nesta etapa, promovem a evaporação de dimetilsulfeto (DMS), composto volátil indesejado (Eblinger & Narzib, 2012).

A clarificação é a etapa responsável pela obtenção de um mosto líquido e límpido, ausente de matérias em suspensão (*trub*), capazes de causar efeitos indesejáveis no processo de fermentação (Kuck, 2008; Teixeira, 2016).

O arrefecimento do mosto tem como finalidade reduzir a temperatura do mosto (cerca de 100°C) para uma temperatura adequada para a inoculação da levedura, dependendo do tipo de fermentação: *Ale* ou *Lager*. É de notar que este arrefecimento deve ser realizado de forma rápida, de modo a evitar contaminações (Aquarone et al., 2001; Carvalho, 2007; Kuck, 2008).

Uma vez que a levedura necessita de oxigénio para iniciar o seu crescimento, após o arrefecimento do mosto, procede-se à sua oxigenação. É fulcral o controlo desta etapa, uma vez que se for mal efetuada, poderá originar problemas no aroma e sabor da cerveja (Kunze, 1999). A oxigenação realiza-se através da adição de ar estéril ou oxigénio (Aquarone et al., 2001).

### 2.3.2 FERMENTAÇÃO

Após a filtração, ebulição e arrefecimento do mosto procede-se à adição de levedura ao mosto (Eblinger & Narzib, 2012). A fermentação diz respeito à etapa onde as leveduras consomem os açúcares fermentescíveis, reproduzem-se e produzem álcool e dióxido de carbono. Como

produtos secundários surgem também ésteres, ácidos e álcoois superiores, responsáveis por conferir propriedades organoléticas à cerveja (Oliveira, 2011). A etapa de fermentação divide-se em duas fases: aeróbia – onde ocorre a multiplicação das leveduras; e anaeróbia – onde ocorre uma redução do extracto (consumido pelas leveduras) e das proteínas, redução do pH e da cor (Carvalho, 2007; Eblinger & Narzib, 2012). Esta etapa dura mais de 5 dias a uma temperatura entre 8 e 15°C.

O processo de fermentação dá-se em tanques fechados, também conhecidos por tanques de guarda, que se encontram revestidos por uma “camisa” externa que permite a passagem de um fluido refrigerante, que poderá ser amónia ou etilenoglicol (Oliveira, 2011).

O produto resultante desta fermentação denomina-se por “cerveja verde”. De seguida, este produto passa por uma fermentação secundária, designada de maturação, com o objetivo de melhorar as suas características e eliminar as substâncias indesejáveis provenientes do processo de fermentação anterior (Kuck, 2008; Ribeiro & Santos, 2005). Neste período, dá-se um repouso prolongado da cerveja ocorrendo saturação com dióxido de carbono (importante para a formação de espuma), clarificação e produção de aromatizantes essenciais para a cerveja (Aquarone et al., 2001; Kuck, 2008; Ribeiro & Santos, 2005).

É também durante a fase de maturação que ocorre a excreção de compostos da levedura que contribuem positivamente para a formação do corpo e desenvolvimento de características organoléticas da cerveja (Kunze, 1999). Com a diminuição da temperatura, dá-se a sedimentação da levedura nas cubas de fermentação, sendo possível a sua recolha para utilização posterior. Este processo de recolha tem de ser efetuado com rapidez, para que não ocorra autólise (Teixeira, 2016). Após a recolha da levedura, esta é armazenada e pode ser reutilizada até à sétima ou oitava geração, sendo depois desprezada (Ribeiro & Santos, 2005; Teixeira, 2016).

Segundo Aquarone et al (2001), após a fermentação inicial e a maturação, a cerveja requer vários tratamentos até ao seu engarrafamento, sendo eles: carbonatação, alteração de sabor e aroma, padronização da cor, estabilização biológica e da turvação e, por fim, clarificação. Os mais utilizados na indústria são os três últimos.

A etapa de clarificação é essencial antes do engarrafamento, de modo a obter uma cerveja brilhante e límpida, através da eliminação da turvação que persiste após a maturação (Briggs et al., 2004; Kuck, 2008). São considerados quatro métodos de clarificação: sedimentação por gravidade, uso de agentes clarificantes, centrifugação e filtração (Briggs et al., 2004).

No caso da sedimentação por gravidade, este é o método de clarificação mais simples, sendo utilizado antes dos filtros e centrífugas. Este é um método em que a sedimentação ocorre de forma espontânea, com a diminuição da temperatura para iniciar a maturação, devendo ser utilizado em conjunto com outros métodos (Venturini Filho, 2010).

Em relação à utilização dos agentes clarificantes, estes possuem cargas positivas e interagem com as células de leveduras e proteínas, que apresentam cargas negativas. Os mais utilizados são: cola de peixe, ácido tânico, silicatos, PVPP e sílica-gel (Esslinger, 2009).

A centrifugação baseia-se na Lei de Stokes, que determina a velocidade de sedimentação das partículas, sendo que existem diversos fatores responsáveis por influenciar este processo, tais como: viscosidade do líquido, diâmetro das partículas e diferença de densidades entre as partículas e o líquido (Venturini Filho, 2010).

### 2.3.3 FILTRAÇÃO

O objetivo da filtração consiste em preservar a cerveja, de modo a que não haja alterações visíveis a longo prazo. Durante a filtração, são removidos os materiais suspensos e responsáveis pela turvação, antes do produto seguir para enchimento. São utilizados filtros de terra diatomácea como agentes filtrantes, os quais vieram substituir os filtros de celulose (Eßlinger, 2009; Lindemann, 2009).

Segundo Lindemann (2009), as variáveis que influenciam o processo de filtração da cerveja são: técnica de filtração utilizada, auxiliares de filtração, substâncias em suspensão (leveduras, proteínas), substâncias dissolvidas ( $\beta$ -glucanos) e colóides (géis de glucano).

Dos tanques de cerveja filtrada, a cerveja é direcionada para o enchimento, sendo acondicionada em garrafa, lata ou barril (Kunze, 1999; Venturini e Filho, 2010).

Antes ou após o enchimento é necessário recorrer à pasteurização, com o objetivo de estabilizar e conservar a cerveja, conferindo estabilidade biológica ao produto acabado. Isto dá-se através da destruição de microrganismos responsáveis pela deterioração da cerveja, pela ação do calor (Kuck, 2008; Kunze, 1999; Venturini Filho, 2010). Existem dois tipos de pasteurização: Pasteurização *flash* e Pasteurização em túnel. A pasteurização *flash* dá-se antes do engarrafamento da cerveja, onde esta circula por um permutador de calor de placas, onde a temperatura sobe rapidamente até aos 72°C, sendo mantida durante 30 a 60 segundos, depois arrefecida e engarrafada (Venturini Filho, 2010). No caso da pasteurização em túnel, esta ocorre após o enchimento das garrafas/ latas. Os pasteurizadores em túnel correspondem a câmaras de aquecimento onde as garrafas ou latas passam durante um período aproximado de 1 hora e são submetidas a aspersores de água até atingirem 60°C, sendo mantidas por 20 minutos. De seguida, passam por zonas de arrefecimento, para diminuir a temperatura da cerveja (Venturini Filho, 2010).

## 2.4 TIPOS DE CERVEJAS

As cervejas podem classificar-se de acordo com o tipo de levedura utilizada na fermentação, o extracto primitivo, a cor, o teor alcoólico e quanto à proporção de malte de cevada.

Quanto ao tipo de levedura utilizada na fermentação, distinguem-se dois grandes tipos de cervejas: de baixa fermentação e de alta fermentação. As cervejas de baixa fermentação ("Lager") são elaborados utilizando levedura *Saccharomyces pastorianus* ou *Saccharomyces cerevisiae*, a uma temperatura de 7 a 15°C, que se tende a sedimentar no fundo dos tanques,

ao concluir o processo de fermentação (Buendía & Hernández, 2010; Tenge, 2009; Verdú, 2016). Dentro das cervejas *Lager* encontram-se os estilos *Pilsener*, *Münchener*, *Dortmunder*, *Viena* e *Dry* (Hellborg e Piskur, 2009; Rainieri, 2009).

Quanto às cervejas de alta fermentação (“Ale”), são obtidas através da utilização da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, a uma temperatura entre 18 e 25°C, sendo que esta levedura tende a flutuar sobre a superfície (Buendía & Hernández, 2010; Tenge, 2009; Verdú, 2016). Este tipo de cervejas, “Ale” teve origem na Grã-Bretanha, Alemanha e Bélgica. Na Grã-Bretanha encontram-se os estilos *Ale*, *Stout* e *Porter*; na Alemanha os estilos *Weissbier*, *Weizenbier*, *Altbier* e *Kölsch*. Por fim, o estilo *Trappista*, proveniente da Bélgica (Hellborg e Piskur, 2009; Rainieri, 2009).

Segundo o extracto primitivo, medida da densidade (graus Plato) em relação ao peso de extracto em cada 100g de mosto, classificam-se em “cervejas fortes”, aquelas que possuem um extracto primitivo superior a 12°P; em “cervejas normais” as que apresentam um extracto primitivo entre 10 e 12°P e, por fim, em cervejas suaves as que possuem um extracto original entre 6 e 10°P (Buendía & Hernández, 2010).

Os graus Plato são uma unidade utilizada para expressar a medida da densidade específica da cerveja, expressa como o peso do extracto em 100g de solução. A densidade inicial é a quantidade de açúcar que se encontra dissolvida no mosto antes da fermentação, ao passo que a densidade final corresponde à quantidade de açúcar dissolvido na cerveja, após terminar a etapa de fermentação (Díaz, 2013; Martínez, 2015).

Tendo em atenção a cor, distinguem-se as “cervejas claras”, obtidas através de malte não tostado; e as “cervejas negras”, elaboradas a temperaturas superiores e tendo na sua base malte e cevada tostados (Buendía & Hernández, 2010).

Segundo a Portaria N°1/96 de 3 de Janeiro, são admitidos os seguintes tipos de cerveja: “Cerveja sem álcool”, bebida cujo teor alcoólico é igual ou inferior a 0,5%vol; “Cerveja com baixo teor alcoólico”, produto cujo teor alcoólico varia entre 0,5% e 1,2%vol; “Cerveja corrente”, bebida cujo teor alcoólico é superior a 1,2%vol e o seu extracto primitivo inferior a 13°P; “Cerveja especial”, produto cujo teor alcoólico é superior a 1,2%vol e apresenta um extracto primitivo entre 13 e 15°P; “Cerveja extra”, produto cujo teor alcoólico é superior a 1,2%vol e o seu extracto primitivo superior a 15°P. Especificamente quanto à fermentação, distingue “Cerveja de fermentação láctica”, cujo produto sofreu uma fermentação láctica ao longo do processo produtivo; e “Cerveja refermentada em garrafa”, cujo produto sofreu uma refermentação na garrafa, através da adição de levedura e acondicionamento adequado.

## 2.5 ASPETOS DE QUALIDADE E PROPRIEDADES

Para que uma cerveja seja considerada de “qualidade”, para além de estar de acordo com as preferências do consumidor, é importante que seja consistente em termos de aparência, cor, sabor, aroma, entre outros aspetos. De modo a que sejam asseguradas as propriedades

físicas, químicas, biológica e sensoriais da cerveja, é necessário haver um controlo em todas as etapas do processo de fabrico, cumprindo todas as especificações (Rios, 2008).

Neste sub-capítulo são descritas algumas propriedades e aspetos relacionados com a qualidade da cerveja.

### 2.5.1 COR

A cor da cerveja deve ser brilhante e corresponder ao seu tipo. As alterações na cor são influenciadas pelo uso de matérias-primas inadequadas, alteração da qualidade da água durante a produção do mosto, separação insuficiente do *trub* ou fermentação lenta. Sabe-se também que o aumento do conteúdo de oxigénio em cerveja engarrafada poderá conferir uma tonalidade avermelhada à cerveja, aumentando de 0,5 a 1 EBC (*European Brewing Convention*); escala de cores que se baseia na mistura de diferentes proporções de vermelho e amarelo (Gresser, 2009; AmBev, 2011).

O desenvolvimento da cor ocorre durante a fervura do mosto - onde se forma cerca de 1/3 da cor-, e durante a secagem/torra do malte. Nesta etapa também são produzidas substâncias ativas que contribuem para o sabor da cerveja (Rios, 2008).

Durante a maltagem, a presença de aminoácidos contribui para o aparecimento de determinados aromas e para a intensificação da cor. Na produção de cervejas “claras” o malte tem de ser seco muito lentamente, de modo que as enzimas libertem aminoácidos que irão reagir com os açúcares redutores (ocorrência da Reação de Maillard, aparecendo, posteriormente, pigmentos característicos). Nas cervejas “escuras”, a temperatura é mais elevada, proporcionando a caramelização de açúcares, obtendo uma cor mais escura (Rios, 2008).

Outros aspetos que podem contribuir para a alteração da cor da cerveja, tornando-a mais escura, são: a incorporação de ar durante a filtração e o armazenamento; contaminação com soda cáustica e tempo de armazenamento prolongado (Rios, 2008).

De modo a que se garanta uma cor uniforme em todos os lotes, por vezes é necessário adicionar corantes, como o extrato de malte, para corrigir a cor da cerveja (Rios, 2008).

### 2.5.2 PH

O pH é um meio para expressar a concentração de ião hidrogénio numa solução (Bamforth, 2001). O pH assume uma grande importância, pois tem influência sobre vários fatores, tais como: crescimento microbiano, intensidade da cor, atividade enzimática, potencial de oxidação e sabor (Oliveira, 2011).

A medição do pH na água, mosto e cerveja desempenha um papel fulcral para assegurar a qualidade do produto, uma vez que o pH influencia a eficiência das enzimas, sendo um indicador de dificuldades no processo de fermentação ou de deterioração microbiológica da

cerveja (Anger et al., 2009). O pH é um fator importante na fermentação, devido ao controlo que exerce na contaminação bacteriana, assim como no crescimento das leveduras, velocidade de fermentação e produção de álcool (Díaz, 2013). Segundo Díaz (2013), o pH mais favorável para o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* encontra-se entre 4,4 e 5,0, sendo um pH de 4,5 o mais adequado para o crescimento óptimo.

A variação deste parâmetro durante a etapa de fermentação deve-se à transformação de aminoácidos, que pela perda de azoto, se transformam em ácidos, o que faz com o que o pH diminua. Outro fator que pode resultar na variação de pH é a produção de dióxido de carbono durante a fermentação aeróbia. Durante a fermentação anaeróbia, apesar de ser produzido etanol, são também produzidos ácidos orgânicos (ácido láctico, propiónico e pirúvico) (Díaz, 2013).

### 2.5.3 SABOR E ODOR

O sabor e o odor definem-se como “as percepções resultantes da estimulação dos terminais sensoriais que se encontram na boca e no olfato” (Rios, 2008).

O sabor da cerveja deve corresponder ao tipo de cerveja que foi produzida e permanecer no produto final o máximo de tempo possível. Este aspeto é determinado por vários compostos como álcoois superiores, ácidos, ésteres, diacetilo e sulfato de dimetilo (DMS), bem como por compostos heterocíclicos (Gresser, 2009).

O aroma e o sabor não são estáveis, uma vez que o sabor depende da temperatura, do conteúdo de CO<sub>2</sub>, da formulação do produto e do próprio provador. A estabilidade do sabor pode melhorar-se recorrendo a meios tecnológicos e à adição de antioxidantes (Gresser, 2009). Uma das causas de se verificar uma diminuição de notas de sabor fresco e surgirem aromas e gostos associados a cerveja envelhecida é o facto dos compostos responsáveis por transmitir gosto e aroma não se encontrarem em total equilíbrio químico, o que faz com que existam várias reacções químicas durante o armazenamento (Vanderhaegen et al., 2006).

O termo *off-flavour* diz respeito a um aroma ou sabor indesejável que resulta da alteração química ou microbiológica de um produto e manifesta-se na alteração de sabor ou aroma do produto, o que permite detetar a origem do problema, identificando os componentes que estão na origem dos *off-flavours* (Vanderhaegen et al., 2006). A existência de *off-flavours* representa um grande problema de qualidade do produto, devido aos baixos limites de percepção sensorial (Guido, 2007; Vanderhaegen et al., 2006).

Os instrumentos analíticos, utilizados para a detecção das propriedades físico-químicas da cerveja, não possuem capacidade de avaliar a percepção humana, tornando-se imperativa a análise sensorial, pois só através dela se consegue avaliar a aceitação do consumidor (Čejka, 2013).

#### 2.5.4 ESPUMA

A espuma é uma característica bastante importante para a aceitação da cerveja pelo consumidor, sendo simultaneamente considerado um indicador de qualidade da cerveja (Silva et al., 2006; Gresser, 2009; Rios, 2008).

A espuma tem efeitos na cerveja, tais como: diminuir o aumento da temperatura da cerveja após a fermentação, diminuir a libertação de CO<sub>2</sub> e evitar a absorção de oxigénio num fator de 10<sup>3</sup> (Gresser, 2009).

A formação de espuma é da responsabilidade de proteínas de alto peso molecular, que derivam do malte e de resinas do lúpulo (isomulonas). Existem alguns aspetos que fazem com que se perca quantidade e qualidade de espuma, sendo eles: contato da cerveja com agentes de limpeza ou lubrificantes, durante o processamento; filtração com material absorvente e tratamento excessivo com enzimas proteolíticas (Rios, 2008; Silva et al., 2006).

Também se deverá ter atenção ao processo de fabrico de cerveja, avaliando matérias-primas e procedimentos, uma vez que existem diversas razões para a formação de espuma de “má qualidade”: malte sobremodificado, cevada contaminada, adição de muitos adjuntos e presença de iões metálicos. Isto poderá ser melhorado, recorrendo aos estabilizantes (gomos ou alginatos) (Rios, 2008).

#### 2.5.5 TURVAÇÃO

A turvação constitui um padrão de qualidade da cerveja quando esta é filtrada, representando o grau de estabilidade da mesma e o comportamento que irá ter durante o seu período de vida útil. Pode dever-se à presença de partículas coloidais em suspensão (Rocha, 2008; Venturini Filho, 2005).

A formação da turvação é um problema muito importante na produção de cerveja, uma vez que afeta a qualidade do produto, traduzindo-se numa falta de confiança dos consumidores (Steiner et al., 2010). Um dos principais objetivos é fornecer uma cerveja brilhante e límpida (Eßlinger, 2009).

A cerveja é uma mistura complexa com diversos constituintes, contendo macromoléculas – proteínas, ácidos nucleicos, polissacáridos e lípidos. As proteínas influenciam todo o processo de fabrico de cerveja, uma vez que as enzimas degradam o amido, beta-glucanos e proteínas; as ligações proteína-proteína são responsáveis por estabilizar a espuma e proporcionar *flavour*. Ainda em combinação com os polifenóis, as proteínas têm a capacidade de formar uma “neblina” (Steiner et al., 2010).

Existem três grupos importantes de polímeros que participam na turvação da cerveja: polipéptidos, polifenóis e polissacáridos. Os minerais desempenham um papel importante na formação da turvação da cerveja, principalmente o ferro e o cobre, catalisadores em processos de oxidação (Gresser, 2009). Também as outras substâncias que fazem parte da constituição da cerveja são responsáveis por causar turvação, tais como proteínas, polifenóis, hidratos de

carbono e partículas orgânicas (Steiner et al., 2010). Os polifenóis são antioxidantes naturais presentes em todos os organismos vegetais superiores, estando presentes no lúpulo. Estes incluem todas as moléculas que contenham dois ou mais anéis de fenol (catequina). Quanto às proteínas envolvidas no processo de turvação, apenas as que contêm o aminoácido prolina (pirrolidona-2-ácido-carboxílico) têm a capacidade de formar colóides em conjunto com os polifenóis (Rocha, 2008).

Relativamente à cerveja, distingue-se entre turvação reversível (*chill haze*) e turvação permanente/ irreversível (*permanent haze*). A turvação reversível aparece quando a cerveja é arrefecido até 0°C ou menos, pois dá-se a oxidação dos flavonóides, que polimerizam e formam cadeias de polifenóis. Esta turvação desaparece quando se dá a quebra de ligações pelo aumento de temperatura até 20°C. Após alguns meses de armazenamento, as cadeias de polifenóis voltam a polimerizar, formando os taninos. Estes ligam-se às proteínas, provocando a turvação permanente. As partículas que constituem a turvação irreversível (tamanho entre 1,0 e 10,0µm) são maiores do que as que constituem a reversível (0,1 e 1,0µm) (Fратиanni, 2016; Gresser, 2009; Rocha, 2008).

Segundo Gresser (2009), se uma cerveja engarrafada for exposta a condições extremas ao longo da sua vida útil (temperaturas elevadas, por exemplo), as proteínas são precipitadas pelos polifenóis – como as proantocianidinas-, causando a turvação do produto. Alguns dos fatores que influenciam a velocidade de formação de substâncias coloidais na cerveja são: temperatura, luz, transporte e metais pesados, que atuam como catalisadores da reação (Rocha, 2008).

A turvação é medida através da dispersão da luz (“Efeito Tyndal”), sendo que é de extrema importância para a indústria cervejeira estabelecer limites de turvação durante a vida útil da cerveja. A medição da turvação é efetuada por instrumentos que detetam a luz que se dispersa pela amostra. O ângulo em que a maioria da luz é desviada do eixo depende do tamanho das partículas – as partículas pequenas desviam a luz num ângulo maior do que as partículas grandes. A turvação é medida em dois ângulos: 25° (indica a presença de partículas maiores como levedura ou kieselghur) e 90° (pequenos complexos coloidais de proteínas e polifenóis) (Anger et al., 2009).

A unidade de medição da turvação mais comum no setor da cervejaria é o EBC, ao passo que a turvação da água é medida em NTU (unidades de turbidez nefelométrica), sendo que 1EBC equivale a 4NTU (Anger et al., 2009).

Para que seja possível prevenir que ocorra o fenómeno da turvação ou fazer com que este esteja dentro dos limites, é necessário que a cerveja passe pela etapa de Clarificação, que se refere ao uso de materiais adsorventes não solúveis como a sílica-gel e a papaínase (no caso da estabilidade de proteínas) e PVPP (polivinilpolipirrolidona, no caso da estabilidade de polifenóis) (Rocha, 2008).

## 2.6 UTILIZAÇÃO DE ESTABILIZANTES NA PRODUÇÃO DE CERVEJA

Este sub-capítulo aborda os tratamentos utilizados para garantir a estabilidade coloidal da cerveja, garantindo a estabilidade de proteínas, polifenóis e espuma, sendo eles: enzima proteolítica (papaínase), sílica-gel, propileno-glicol, polivinilpirrolidona e BrewsClarex®.

Os estabilizantes atuam por ligação aos complexos proteínas-polifenóis - principais responsáveis pela turvação de cervejas-, coagulando-os, fazendo com que se transformem em flocos grandes e se depositem no fundo do tanque de fermentação ou sendo removidos com maior facilidade durante a filtração da cerveja (Zuppardo, 2010).

Segundo Edens et al (2006), o uso de auxiliares tecnológicos será uma das melhores opções para reduzir o potencial de turvação da cerveja, assim, empregam-se estratégias de tratamento de cerveja que passam pelo tratamento para remoção de proteínas, sendo que a papaína é responsável pela degradação proteica e a sílica-gel funciona como adsorvente; tratamento para a remoção de taninos (polifenóis), onde se utilizam como adsorventes o PVVP (Mastanjević et al., 2018) e tratamento para estabilização de espuma (alginato de propileno-glicol) (Zuppardo, 2010).

### 2.6.1 PAPAÍNA

A papaína (E.C. 3.4.22.2) é enzima proteolítica com uma massa molecular de 23406 dalton extraída a partir do mamão papaia (*Carica papaya* L.) e constituída por uma cadeia de 212 aminoácidos (Thomás et al., 2009). É utilizada para degradar compostos proteicos de alto peso molecular, de modo a evitar que estes fiquem disponíveis para formar complexos com os polifenóis (Mastanjević et al., 2018). A papaína é uma das tiol-proteases e o seu centro activo é Cis-25, His-159 e Asp-158. Esta enzima apresenta uma ampla atividade proteolítica perante proteínas, péptidos de cadeia curta, ésteres de aminoácidos e ligações de amido, sendo amplamente utilizada na alimentação e medicina, bem como em indústrias têxteis e cosméticas (Thomás et al., 2009; Sankalia et al., 2004). Na indústria das bebidas, a aplicação desta enzima está relacionada com a hidrolisação das proteínas de alto peso molecular, durante a clarificação da cerveja, evitando que ocorra turvação da cerveja durante a sua vida útil (Aehle, 2007).

Esta enzima pode ser adicionada durante a maturação ou durante o processo de filtração da cerveja, sendo que em doses inferiores às utilizadas na maturação. A desvantagem da sua utilização advém do facto da capacidade da papaína degradar compostos azotados de alto peso molecular, responsáveis pela estabilidade da espuma da cerveja. Com isto, é necessário compensar a perda de estabilidade da espuma, utilizando alginatos durante a filtração, como o caso do propileno-glicol (Mastanjević et al., 2018).

### 2.6.2 SÍLICA-GEL

A sílica-gel tem vindo a ser utilizada desde há muitos anos na clarificação e estabilização da cerveja (Leiper, 2002).

Os géis de sílica encontram-se em duas formas principais – hidrogel (com 70% de água) e xerogel (5% de água). Ambos apresentam uma estrutura porosa, sendo a superfície coberta por grupos de silanol (SiOH), que se ligam a proteínas, principalmente às que contêm elevados níveis do aminoácido prolina. Para além disto, este tratamento é também vantajoso em termos da estabilidade de espuma, uma vez que não remove polipéptidos, responsáveis pela formação de espuma (Leiper, 2002).

A sílica gel pode ser utilizada como suporte para síntese em fase sólida, purificador, catalisador ou reagente, tendo como vantagem as suas simples condições de reação (Hoffmann, 2002). Hoffmann (2002) classifica a sílica como aquagel (poros preenchidos com água), xerogel (a fase aquosa dos poros é removida por evaporação) e aerogel (remoção do solvente por extracção supercrítica). Dentro de outras aplicações, o xerogel é utilizado como estabilizador na cerveja, sendo que é produzido na forma de sílica amorfa, tendo como função adsorver, de forma selectiva, as proteínas ativas da cerveja.

O fenómeno de adsorção define-se como a adesão de moléculas de um fluido (adsorbato) a uma superfície sólida (adsorvente). Trata-se de um fenómeno de transporte e a transferência de massa ocorre quando existe superfície de contacto entre um sólido e um gás ou líquido e a concentração de gás ou líquido é maior na superfície, relativamente ao interior. A intensidade do fenómeno de adsorção depende de fatores como: temperatura, concentração do adsorbato, natureza e estado de agregação do adsorvente e do fluido que está em contacto com o adsorvente (Biazon, 2008).

### 2.6.3 POLIVINILPOLIPIRROLIDONA

A polivinilpirrolidona (PVPP) é um pó branco sintético e insolúvel, que tem a capacidade de adsorver os polifenóis da cerveja (Fратиanni, 2016).

A remoção dos polifenóis presentes na cerveja, provenientes do malte e do lúpulo, é conseguida através da aplicação de PVPP. A utilização de PVPP previne a oxidação dos flavonóides, que são responsáveis por provocar um sabor desagradável, adstringente e amargo na cerveja (Mastanjević et al., 2018).

A quantidade e o tempo necessário para o tratamento dependem de fatores como: concentração de polifenóis que está presente, temperatura e tempo de vida útil pretendida (Mastanjević et al., 2018).

O PVPP, enquanto polímero estabilizante coloidal, remove polifenóis específicos na cerveja, através da união de pontes de hidrogénio, sendo posteriormente removido durante a filtração. A ligação de hidrogénio dá-se entre o grupo carboxilo do PVPP e os grupos hidroxilo dos polifenóis (Fратиanni, 2016; Prozyn, 2018).

O PVPP apresenta inúmeras vantagens como: evitar a formação de complexos proteína-polifenóis, através da remoção dos polifenóis; ser insolúvel na cerveja e eliminado na filtração; prolongar o tempo de vida útil da cerveja até 1 ano; permitir a estabilização coloidal da cerveja sob condições extremas; remover a adstringência causada pelos polifenóis e possibilidade de dosagem na maturação (Prozyn, 2018).

#### 2.6.4 ALGINATO DE PROPILENO-GLICOL

O alginato de propileno glicol (APG) é um tipo de alginato produzido mediante a esterificação do grupo carboxílico do ácido algínico com o grupo do propileno-glicol (Zuppardo, 2010).

O alginato de propileno-glicol dissolve-se em água quer fria, quer quente, formando soluções viscosas muito estáveis. A solução aquosa de APG apresenta propriedades antiácidas, antisalinas e estabilizante de espumas e emulsões (Zuppardo, 2010).

Relativamente às suas propriedades antiácidas, o alginato de propileno-glicol apresenta uma viscosidade muito estável e a pH 3-4 atua como agente espessante em bebidas acidificadas e como estabilizante de emulsões. Quanto às propriedades antisalinas, uma alta concentração de NaCl, provoca a precipitação da molécula por excesso de sal, o que não ocorre com o APG, pois é bastante estável, mesmo quando estão presentes bastantes eletrólitos orgânicos. Por fim, o APG é dotado de um alto poder enquanto estabilizante de espuma, uma vez que interage com a água que se encontra entre as bolhas de ar e, sendo por isto, utilizado na produção de cerveja (Zuppardo, 2010).

Os consumidores de cerveja preferem que a cerveja tenha espuma na parte superior quando é vertida para um copo e classificam a cerveja como de “má qualidade” quando é pobre em espuma. Assim, a adição de APG tem a capacidade de proporcionar uma espuma estável e com maior duração (FAO, 2001).

#### 2.6.5 BREWS CLAREX®

BrewsClarex® é uma enzima pura que contém uma endoprotease específica da prolina, derivada de uma cultura seleccionada de *Aspergillus niger*, que evita a formação da turvação na cerveja, através da hidrólise de proteínas. Pode ser usado com todos os tipos de cevada maltada e outras matérias-primas (DSM, 2013).

É considerado um tratamento seguro e eficaz, uma vez que não só ocorre qualquer mudança de sabor, como este ainda é estabilizado; a qualidade da espuma mantém-se e a cerveja fica isenta de turvação (DSM, 2013).

Apresenta como vantagens: o facto de ser fácil de utilizar (injecção no início da fermentação), aplicar-se uma dose baixa, não existir necessidade de uma filtração extra para remoção de polifenóis ou proteínas e, por fim, economiza energia, uma vez que a estabilização a frio pode ser dispensada (DSM, 2013), e economiza tempo.

---

Para além disto, a cerveja também se torna isenta de glúten, uma vez que os seus péptidos são hidrolisados pela enzima (DSM, 2013).

### 3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

No presente capítulo é feita uma apresentação e caracterização da Empresa X, bem como são descritos os materiais e métodos utilizados para a realização deste trabalho.

#### 3.1 APRESENTAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA EMPRESA X

A Empresa X é uma empresa líder espanhola na fabricação e comercialização de cervejas, refrigerantes e águas com gás, focada em Marcas de Distribuição (MDD) e *co-packing* especializado.

Esta empresa pertence ao Grupo Damm, um dos maiores produtores de cerveja em Espanha, o que lhe fornece uma melhoria de recursos, conhecimento e capacidade de produção, realçando a qualidade do produto e do serviço prestado.

A Empresa X faz parte de associações como a ANFABRA (Associação Nacional de Fabricantes de Bebidas Sem Álcool) e APCV (Associação Portuguesa dos Produtores de Cerveja), produzindo anualmente mais de 700 milhões de litros.

Um dos objetivos da empresa baseia-se em conseguir adquirir a melhor solução, tanto a nível de formulação como *packaging*, contando com técnicas inovadoras.

Em termos de qualidade, a Empresa X garante qualidade em todos os produtos, assim como nos processos produtivos, através de várias certificações (Sistema de Gestão de Qualidade, IFS, ISO 9001, entre outras). O objetivo em termos de qualidade é fornecer produtos totalmente seguros e inócuos.

A Empresa X destaca o ambiente como um ponto-chave na gestão do seu negócio, garantido o controle ambiental da sua atividade e promovendo a melhoria contínua de processos, através das certificações ISO 14001.

Em termos logísticos, oferece um serviço integral com vasta capacidade de armazenagem; paletização e sistemas de carga adaptados; gestão integral de transporte; monitorização total do produto até ao destino final e serviço de atenção logística ao cliente.

A Empresa X é composta por 3 fábricas, distribuídas em pontos estratégicos, de modo a corresponder às necessidades dos mercados nacional e internacional. Em Espanha existem duas fábricas, uma situada em El Puig e outra em Salem, sendo que a primeira é responsável pela produção de cervejas e, a segunda, por refrigerantes. Em Portugal, a fábrica da Empresa X situa-se na Zona Centro do País e destina-se à fabricação de cervejas e refrigerantes, contando com uma área total de 290725m<sup>2</sup>, distribuídos em: receção de matérias-primas, Sala de Malte, Brassagem, Fermentação, Guarda, Xaroparia, Enchimento e Armazéns.

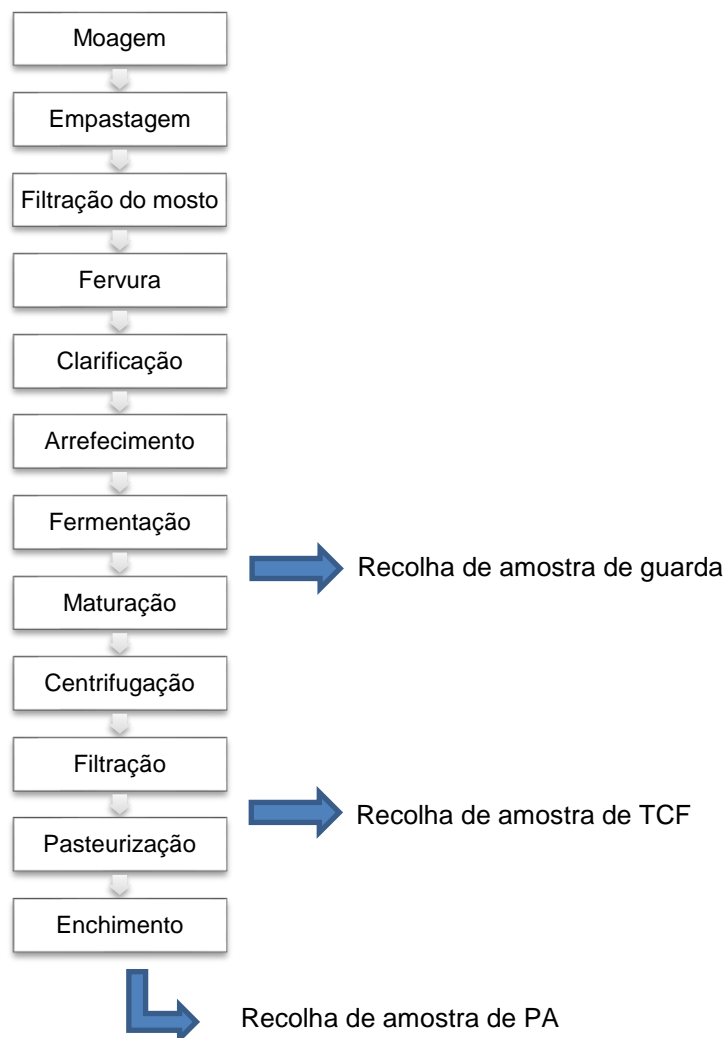
## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste sub-capítulo são apresentados os materiais e métodos utilizados para a determinação da turvação e estabilidade coloidal, tendo em conta as alterações de estabilizantes adicionados durante o processo de produção de cerveja.

### 3.2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para a realização deste trabalho, foi efectuada uma recolha de dados das análises realizadas à turvação e estabilidade coloidal da cerveja em três fases distintas do seu processo produtivo (**Figura 3.1**): cerveja em guarda, tanque de cerveja filtrada e produto acabado.

As análises correspondentes a estes dois métodos que fazem parte da rotina do laboratório de Física e Química da Empresa X.



**Figura 3.1** - Fluxograma representativo do processo produtivo de cerveja.

TCF – tanque de cerveja filtrada; PA – produto acabado

As análises da turvação da cerveja correspondem a amostras analisadas entre o período de Setembro de 2017 a Março de 2018. Tendo em conta que a maior mudança a nível da adição

de estabilizantes se deu no mês de Janeiro de 2018, procurou-se recolher dados respeitantes a 3 meses antes e 3 meses após esta data.

Quanto às análises da estabilidade coloidal, apenas tiveram início no mês de Janeiro de 2018. Foram analisadas amostras de cerveja em guarda, tanques de cerveja filtrada e produto acabado (**Tabela 3.1**). Nas amostras de cerveja em guarda, realizam-se análises à turvação e à estabilidade coloidal, tendo estas análises tido início apenas no mês de Janeiro de 2018, anteriormente não eram efetuadas. No caso dos tanques de cerveja filtrada e produto acabado, apenas se realiza a análise de turvação.

**Tabela 3.1**– Parâmetros de análise e respectivas amostras

PARÂMETROS DE ANÁLISE	AMOSTRAS
Turvação	Cerveja em guarda Tanques de cerveja filtrada Produto acabado
Estabilidade Coloidal	Cerveja em guarda

Numa primeira fase, foi necessário perceber quais as alterações a nível dos estabilizantes que estariam a ser empregues no processo produtivo da cerveja (**Tabela 3.2**).

**Tabela 3.2** - Estabilizantes utilizados no processo produtivo da cerveja entre Dezembro de 2017 e Março de 2018

Tratamento	Data	Estabilizantes utilizados	
I	De 05/09/2017 até 19/12/2017	• Papaínase (em trasfega à guarda);	
		<u>Cerveja nacional (em filtro):</u> • Sílica gel; • Papaínase; • Manucol.	<u>Cerveja exportação (em filtro):</u> • Sílica gel; • Papaínase; • Manucol; • PVPP.
II	De 19/12/2017 a 08/01/2018	• Brews Clarex® (em mostos);	
		<u>Cerveja nacional (em filtro):</u> • Sílica gel; • Papaínase; • Manucol.	<u>Cerveja exportação (em filtro):</u> • Sílica gel; • Manucol; • Papaínase • PVPP.

**Tabela 3.2** – Estabilizantes utilizados no processo produtivo da cerveja entre Dezembro de 2017 e Março de 2018

Tratamento	Data	Estabilizantes utilizados	
III	De 08/01/2018 a 31/01/2018	• Brews Clarex® (em mostos);	
		<u>Cerveja nacional (em filtro):</u> • Sílica gel; • Manuacol.	<u>Cerveja exportação (em filtro):</u> • Sílica gel; • Manuacol; • PVPP.
IV	De 31/01/2018 a 15/02/2018	• Brews Clarex® (em mostos);	
		<u>Cerveja nacional (em filtro):</u> • Manuacol.	<u>Cerveja exportação (em filtro):</u> • Sílica gel; • PVPP.
V	A partir de 15/02/2018	• Brews Clarex® (em mostos);	
		<u>Cerveja nacional (em filtro):</u> • Manuacol.	<u>Cerveja exportação (em filtro):</u> • Sílica gel; • PVPP; • Papaínase.

É de notar que o manuacol (alginato de propileno glicol) apresenta várias ações sobre os produtos alimentares, incluindo formação de gel, viscosidade e estabilidade (FMC, 2008). Para além disto, o manuacol apresenta um elevado rendimento enquanto estabilizante de espuma, pela sua interação com a água que se encontra entre as bolhas de ar (Zuppardo, 2010).

A papaína (ou papaínase) é uma enzima proteolítica ou uma mistura de enzimas proteolíticas, constituída, principalmente, de papaína e quimopapaína, preparada a partir do látex do mamão verde (*Caricaceae*) (Pereira, 2015). Este tipo de enzimas são comercialmente importantes no tratamento de sumos de fruta e bebidas, auxiliando na filtração e clarificação (Food Ingredients Brasil, 2009).

As proteínas que estão envolvidas na formação da turvação são ricas em prolina, sendo que só estas formam colóides com os polifenóis. Estes incluem todas as moléculas que contêm dois ou mais anéis fenol (flavonóides, por exemplo). Os monómeros não têm capacidade de formar ligações por ponte de hidrogénio com as proteínas, só quando polimerizam e aí têm a capacidade de produzir turvação. Após três a seis semanas de armazenamento, os flavonóides oxidam-se e polimerizam, formando cadeias de polifenóis que precipitam as proteínas, originando turvação. Depois de alguns meses de armazenamento, as cadeias de polifenóis estão prontas a polimerizar, originando os taninos, que formam fortes ligações com as

proteínas, originando a turvação permanente. Alguns dos factores que influenciam a velocidade de formação das substâncias coloidais são: temperatura, luz, transporte da cerveja e metais pesados, que atuam como catalisadores. Para a clarificação da cerveja utilizam-se materiais adsorventes não solúveis que removem os precursores de turvação, como o PVPP (Rocha, 2008). Com isto, é de extrema importância a adição de PVPP em cervejas destinadas a exportação, uma vez que sofrem diferenças de temperatura durante o transporte e o seu armazenamento irá ser mais prolongado.

No Tratamento I, que terminou a 19/12/2017, em trasfega à guarda era utilizada papaínase. No caso da Cerveja Nacional, em filtro, eram adicionados sílica-gel, papaínase e manucol; na de Exportação, para além destes estabilizantes, era adicionado PVPP.

No Tratamento II, testado entre 19/12/2017 e 08/01/2018, passou a adicionar-se em mosto arrefecido BrewsClarex, em vez de papaínase na trasfega à guarda. Na Cerveja Nacional, em filtro, adicionava-se sílica-gel, papaínase e manucol; na Cerveja de Exportação era ainda adicionado PVPP para além destes estabilizantes.

No Tratamento III, testado entre 08/01/2018 e 31/01/2018, continuou a utilizar-se BrewsClarex em mosto arrefecido. Na Cerveja Nacional, em filtro, adicionou-se apenas sílica-gel e manucol; na Cerveja de Exportação, era também adicionado PVPP.

No Tratamento IV, entre 31/01/2018 e 15/02/2018, continuou a utilizar-se BrewsClarex em mosto arrefecido. Na Cerveja Nacional, em filtro, adicionou-se apenas manucol; em Cerveja de Exportação era adicionado sílica-gel e PVPP.

Por fim, no Tratamento V, que teve início a 15/02/2018, continuou a utilizar-se BrewsClarex em mosto arrefecido. Na Cerveja Nacional, em filtro, adicionou-se apenas manucol; na Cerveja de Exportação utilizou-se sílica-gel, PVPP e papaínase.

Com este trabalho pretendeu-se verificar onde existiam diferenças significativas entre os valores das variáveis em estudo entre todos os Tratamentos. Para isto, é necessário perceber que alterações existem entre tratamentos.

Entre os Tratamentos I e II, a única alteração que existe é a substituição de papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I),

Entre os Tratamentos I e III, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento III), bem como foi retirada a adição de papaínase quer em cerveja nacional, quer de exportação, no Tratamento III.

Entre os Tratamentos I e IV, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento IV). Para além disto, em cerveja nacional, no Tratamento I eram empregues sílica-gel, papaínase e manucol no Tratamento I, sendo que no Tratamento IV passou apenas a aplicar-se manucol. No caso da cerveja de exportação, no Tratamento I eram empregues sílica-gel, papaínase, manucol e PVPP, tendo sido retirados a papaínase e o manucol no Tratamento IV.

Entre os Tratamentos I e V, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento V). Na cerveja nacional, eram adicionados sílica-gel, papaínase e manucol (Tratamento I), tendo sido adicionado apenas

manuol no Tratamento V (tal como no Tratamento IV). No caso da cerveja de exportação, no Tratamento I eram empregues papaínase, sílica-gel, manuol e PVPP, ao passo que no Tratamento V foi retirada a adição de manuol.

Os parâmetros analisados foram definidos de acordo com os objectivos do trabalho e consistem na Determinação da Turvação e da Estabilidade Coloidal. Na **Tabela 3.3**, encontra-se a referência ao método analítico aplicado aos dois parâmetros em análise – Turvação e Estabilidade Coloidal. De seguida, é explicado o fundamento e uma breve descrição do método analítico utilizado para cada parâmetro.

**Tabela 3.3**– Análises efetuadas à cerveja e respectivos métodos analíticos

PARÂMETRO	MÉTODO ANALÍTICO
Turvação	MA 1.032 – v.4 “Determinación de turbidez en las cervezas”. Grupo DAMM
Estabilidade Coloidal	Método 9.41 “Alcohol Chill Haze in Beer (Test Chapon)”. Analytica EBC

### 3.2.2 DETERMINAÇÃO DA TURVAÇÃO

Objetivo: Determinar a turvação de uma amostra de cerveja.

Princípio: Baseia-se em medir a luz refletida pelas partículas em suspensão, em direcção perpendicular (90°) ou 25°. Este método pode ser aplicado a cervejas em qualquer fase de processamento, desde a fermentação até ao produto final. A turvação é dada diretamente pelo turbidímetro Haffmans Vos Rota 90/25, em EBC.

O procedimento relativo à Determinação da Turvação encontra-se descrito no **Anexo I**.

### 3.2.3 DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE COLOIDAL

Objetivo: Estimar a estabilidade coloidal da cerveja, pelo teste de álcool a frio (TAF) ou “Test de Chapon”.

Princípio: A estabilidade coloidal determina-se mediante o ensaio de álcool a frio, segundo o “Test de Chapon”, onde se adiciona etanol à cerveja, provocando a formação de turvação a frio. Isto deve-se ao facto do álcool se ligar a um determinado número de moléculas de água de solvatação, na parte proteica da associação taninos/proteínas, afectando de modo negativo a sua solubilidade e, por isso, aumentando a turvação da amostra. Este método pode ser aplicado a cervejas em qualquer fase de processamento, desde a fermentação até ao produto final. A estabilidade coloidal expressa-se em EBC, com duas casas decimais, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Estabilidade Coloidal (EBC)} = \text{Turvação Final (EBC)} - \text{Turvação Inicial (EBC)}$$

O procedimento relativo à Determinação da Turvação encontra-se descrito no **Anexo II**.

### 3.2.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

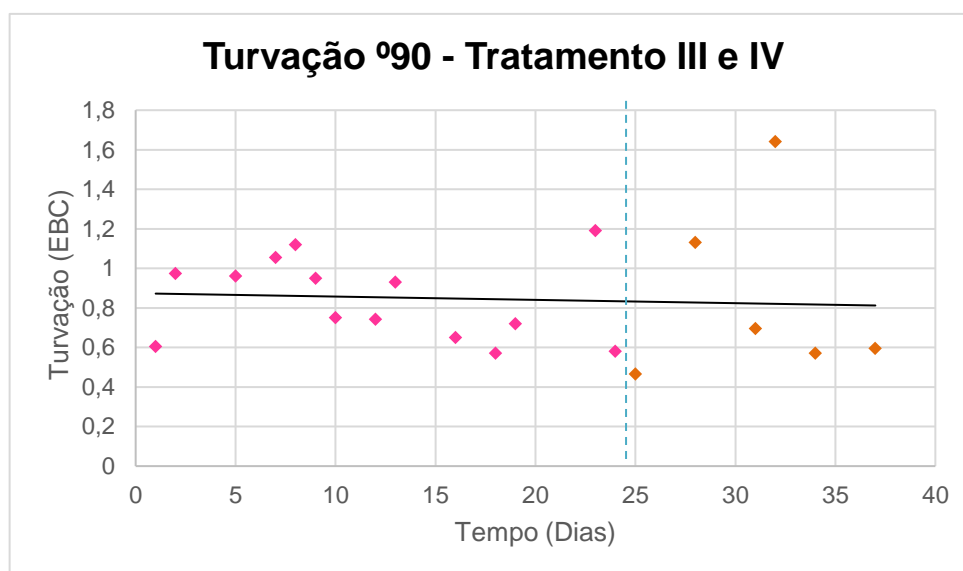
Os dados serão submetidos à análise de variância e as médias comparadas utilizando-se a análise ANOVA de factor único, com o auxílio do programa Excel, de modo a perceber se existem ou não diferenças significativas entre as variâncias das variáveis em estudo (Estabilidade Coloidal e Turvação).

## 4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

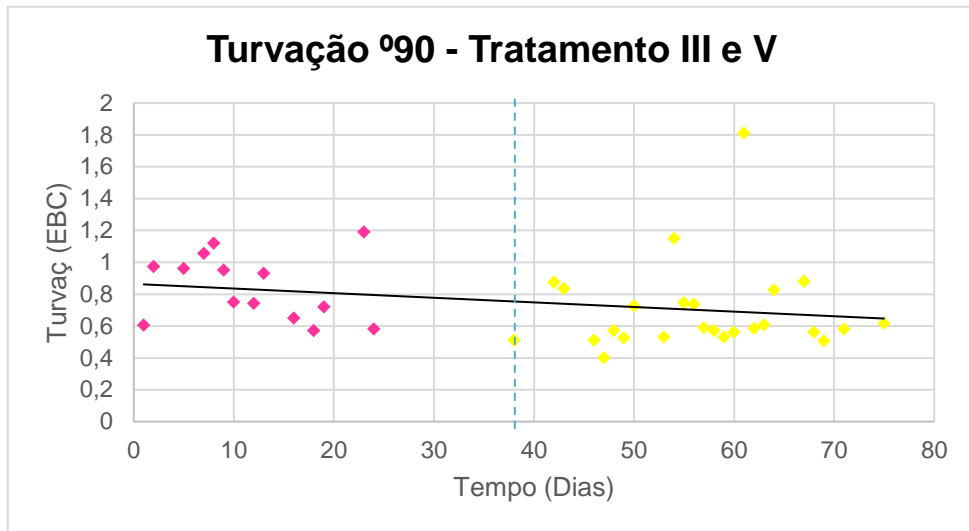
Os resultados apresentados no presente capítulo seguinte dizem respeito a análises realizadas entre o período de Setembro de 2017 a Março de 2018. Este capítulo divide-se em 3 subcapítulos, que dizem respeito a cada fase de processamento da cerveja: Guardas, Tanques de Cerveja Filtrada e Produto Acabado.

### 4.1 GUARDAS

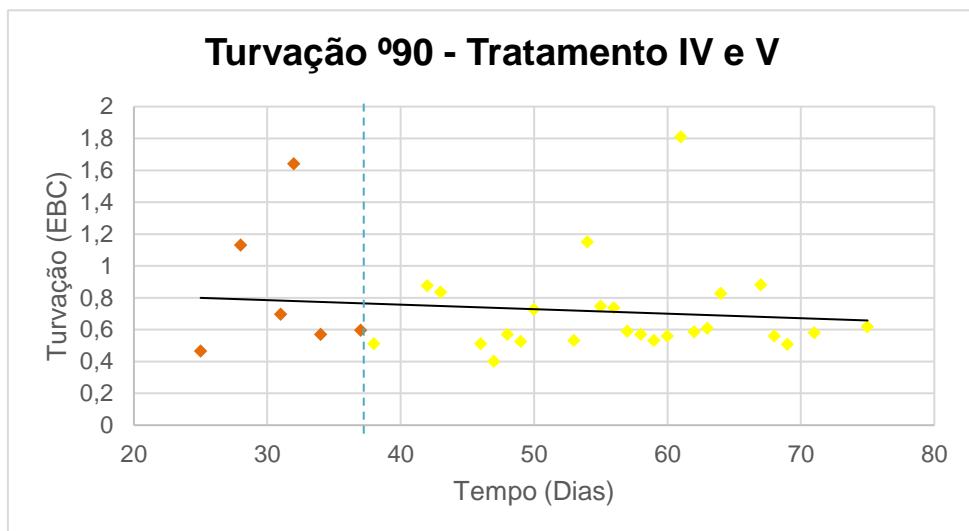
Nesta fase de processamento da cerveja, as guardas, foram comparados dois parâmetros – a turvação  $^{\circ}90$  e estabilidade coloidal. Os resultados obtidos em termos de Turvação  $^{\circ}90$  são apresentados nas **Figuras 4.1, 4.2 e 4.3**. É de notar que esta análise apenas passou a ser efetuada a partir de 08/01/2018, daí apenas existirem dados de Turvação  $^{\circ}90$  nos Tratamentos III, IV e V (v. **Tabela 3.2**).



**Figura 4.1** - Comparação da Turvação  $^{\circ}90$  entre o Tratamento III (Rosa) e IV (Laranja) nas Guardas



**Figura 4.2** – Comparação da Turvação <sup>90</sup> entre o Tratamento III (Rosa) e V (Amarelo) nas Guardas



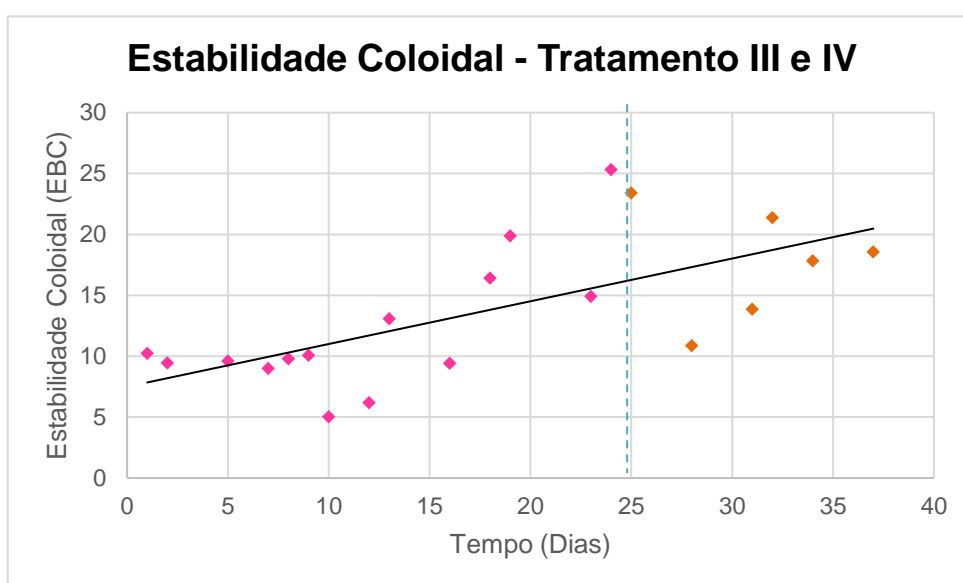
**Figura 4.3** – Comparação da Turvação <sup>90</sup> entre o Tratamento IV (Laranja) e V (Amarelo) nas Guardas

Foi efetuada uma Análise ANOVA factor único entre os Tratamentos III, IV e V, em que  $p(0,23) > 0,05$  e  $F(1,51) < F_{crítico}(3,22)$ , concluindo-se que não existem diferenças significativas entre as variâncias dos valores da variável em estudo (Turvação <sup>90</sup>) entre os três tratamentos. O facto de não existirem diferenças significativas pode justificar-se com o facto de nesta fase de processamento da cerveja não existirem dados referentes a todos os tratamentos, inclusive o primeiro (Tratamento I, em que ainda não era adicionado Brews Clarex<sup>®</sup>). Isto prende-se com o facto de a análise da turvação em guardas ter apenas começado a ser efectuada em Janeiro de 2018. Ou seja, nos Tratamentos de que foram alvo (Tratamentos III, IV e V), era empregue BrewsClarex em todos. Portanto, o fato de não haver diferença entre estes três tratamentos

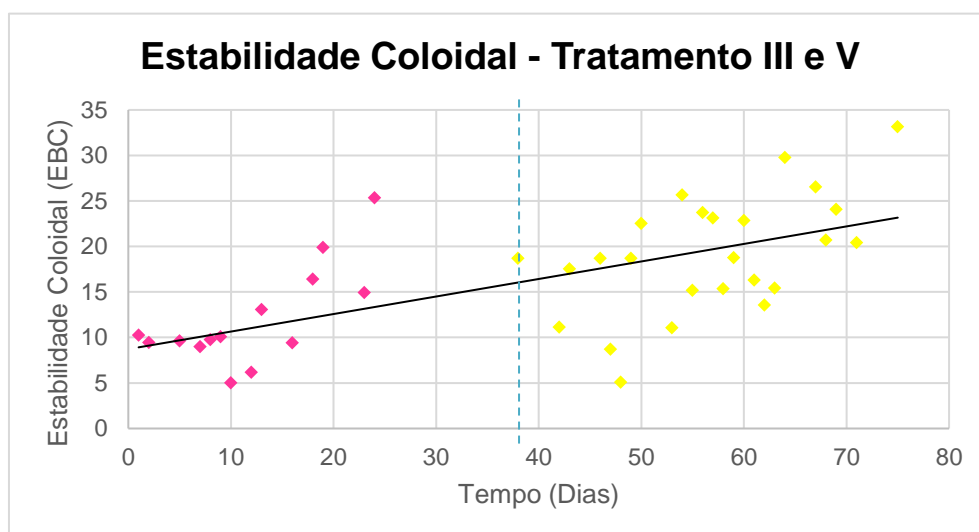
nas guardas faz sentido, pois nesta fase foi aplicado o mesmo tratamento em todos (a adição de Brews Clarex®).

Através da observação das linhas de tendências dos gráficos das **Figuras 4.1, 4.2 e 4.3**, é possível verificar que a Turvação °90 tem tendência a diminuir, sendo este o objectivo principal da adição de Brews Clarex®, que evita a formação da turvação na cerveja, através da hidrólise de proteínas (DSM, 2013). No entanto, seria importante existirem dados acerca dos tratamentos onde ainda não era empregue este estabilizante.

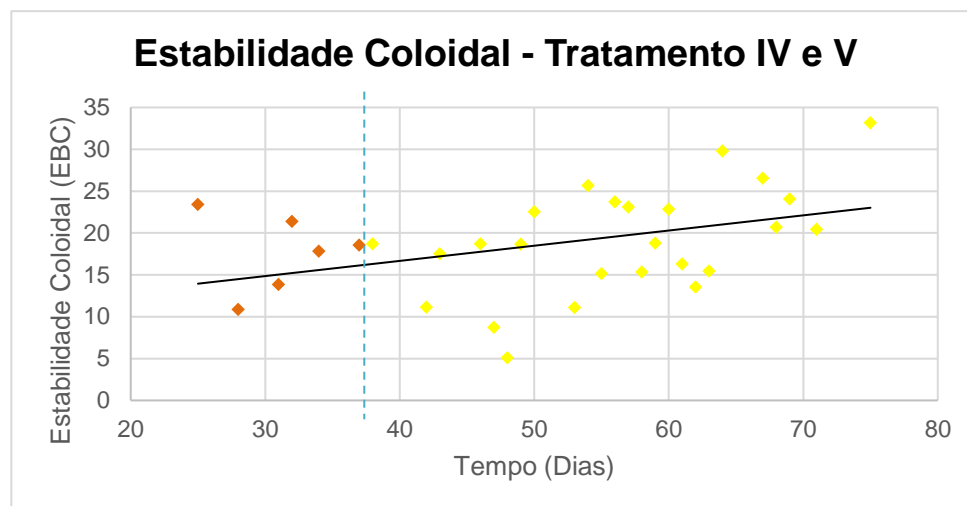
As **Figuras 4.4, 4.5 e 4.6** dizem respeito à Estabilidade Coloidal nas Guardas e englobam os Tratamentos III, IV e V.



**Figura 4.4** – Comparação da Estabilidade Coloidal entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) nas guardas



**Figura 4.5** – Comparação da Estabilidade Coloidal entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) nas guardas



**Figura 4.6** – Comparação da Estabilidade Coloidal entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) nas guardas

Foi efetuada uma análise ANOVA factor único entre os Tratamentos III, IV e V, em que  $p(0,004) < 0,05$  e  $F(6,24) > F_{\text{crítico}}(3,23)$ , ou seja, existem diferenças significativas entre as variâncias dos valores da variável em estudo (Estabilidade Coloidal).

Posto isto, procedeu-se a outra análise ANOVA, em que se verificou que entre os Tratamentos III e IV existem diferenças significativas, pois  $p(0,04) < 0,05$  e  $F(4,79) > F_{\text{crítico}}(4,41)$ . Entre os Tratamentos IV e V não existem diferenças significativas, uma vez que  $p(0,62) > 0,05$  e  $F(0,25) < F_{\text{crítico}}(4,18)$ . Por fim, entre os Tratamentos III e V, verifica-se a existência de diferenças significativas entre as variâncias dos valores da Estabilidade Coloidal, uma vez que  $p(0,002) < 0,05$  e  $F(11,67) > F_{\text{crítico}}(4,10)$ .

A estabilidade coloidal refere-se às inalterações em parâmetros de qualidade como a turvação presente na cerveja, pretendendo avaliar a duração do brilho da cerveja após o seu engarrafamento. Este parâmetro relaciona-se diretamente com a vida útil técnica ou real de uma cerveja, assumida como o período de tempo durante o qual mantém as suas propriedades visuais (Mélotte, 2008).

Analisando as linhas de tendência das **Figuras 4.4, 4.5 e 4.6** é possível verificar que em todas a Estabilidade Coloidal aumenta. A estabilidade coloidal é um parâmetro de qualidade da cerveja que se determina através do ensaio de álcool a frio, em que o etanol se liga a moléculas de água de solvatação, na parte proteica da associação taninos/proteínas. Quanto mais baixa for a neblina fria que se forma, maior a estabilidade coloidal, sendo que a névoa fria que se forma estima principalmente a parte proteica (Chapon, 1993). Com o aumento dos valores da estabilidade coloidal, é possível entender que a parte proteica se encontra livre, aumentando as hipóteses de ligação de polifenóis.

O facto de ter havido diferenças significativas entre os valores da EC, apesar de os Tratamentos utilizados serem os mesmos a nível de atuação nas guardas – é adicionado BrewsClarex em mosto em todos os tratamentos-, pode ser explicado com o facto de existirem

outras substâncias capazes de interferir na estabilidade da cerveja, tais como minerais (ferro e cobre) (Gresser, 2009), hidratos de carbono e partículas orgânicas (Steiner et al., 2010). Esta diferença pode ter resultado da diferença temporal do tratamento III (0-25 dias) para o tratamento IV (25-40 dias) e V (40-80 dias), por exemplo, em diferenças na qualidade da água utilizada no processo.

Nas **Figuras 4.7 e 4.8** é possível verificar a evolução dos valores de turvação e estabilidade coloidal nas guardas, alvo dos tratamentos III, IV e V, respectivamente. Através da observação da **Figura 4.7**, verifica-se que durante o Tratamento V, a turvação tem vindo a diminuir, apesar de não existirem diferenças significativas entre os três tratamentos, como já foi referido anteriormente. A **Figura 4.8** demonstra o claro aumento dos valores da Estabilidade Coloidal nas guardas.

Apesar do aumento dos valores da Estabilidade Coloidal, o que indica uma diminuição a nível de estabilidade do produto, é algo que não é preocupante, uma vez que na filtração seguinte (ao nível dos tanques de cerveja filtrada) são adicionados estabilizantes (Sílica-gel, papaínase, manucol e PVPP) com o objectivo remover as partículas responsáveis por causar turvação na cerveja e assegurar a estabilidade do produto final. Neste sentido, seria então importante avaliar a EC a nível do produto final.

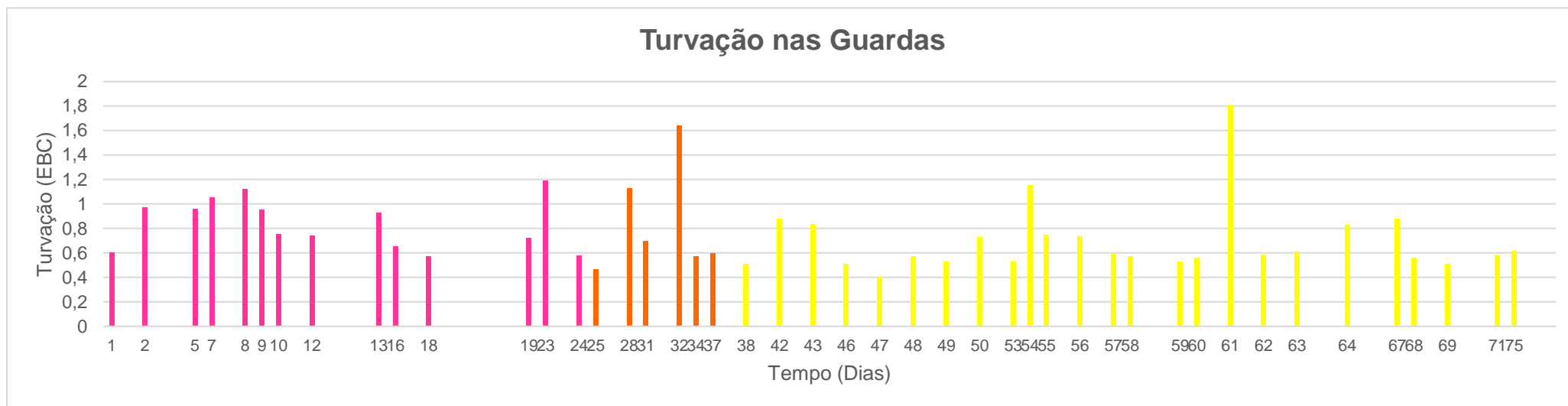


Figura 4.7 - Evolução da Turvação durante os Tratamentos III (Rosa), IV (Laranja) e V (Amarelo) nas guardas

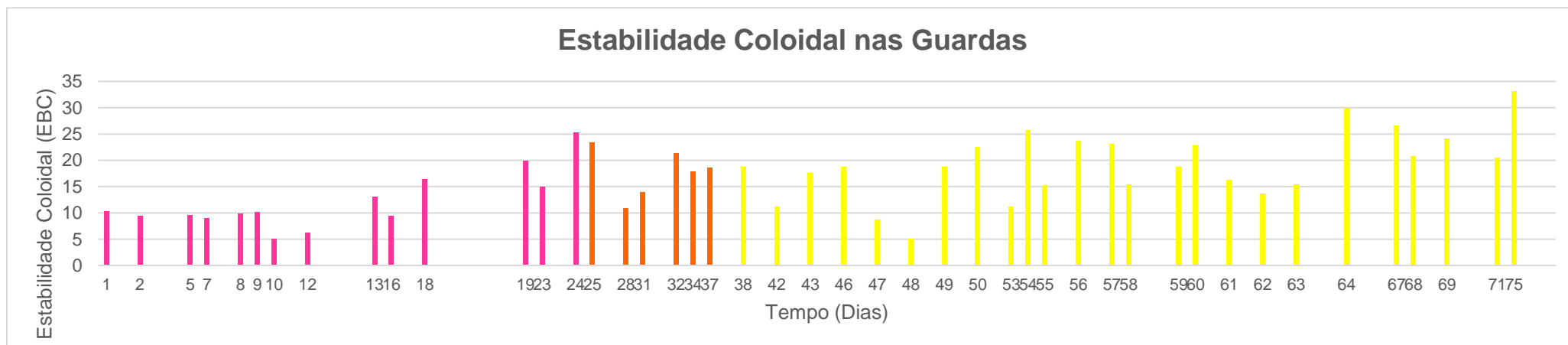


Figura 4.8 – Evolução da Estabilidade Coloidal durante os Tratamentos III (Rosa), IV (Laranja) e V (Amarelo) nas guardas

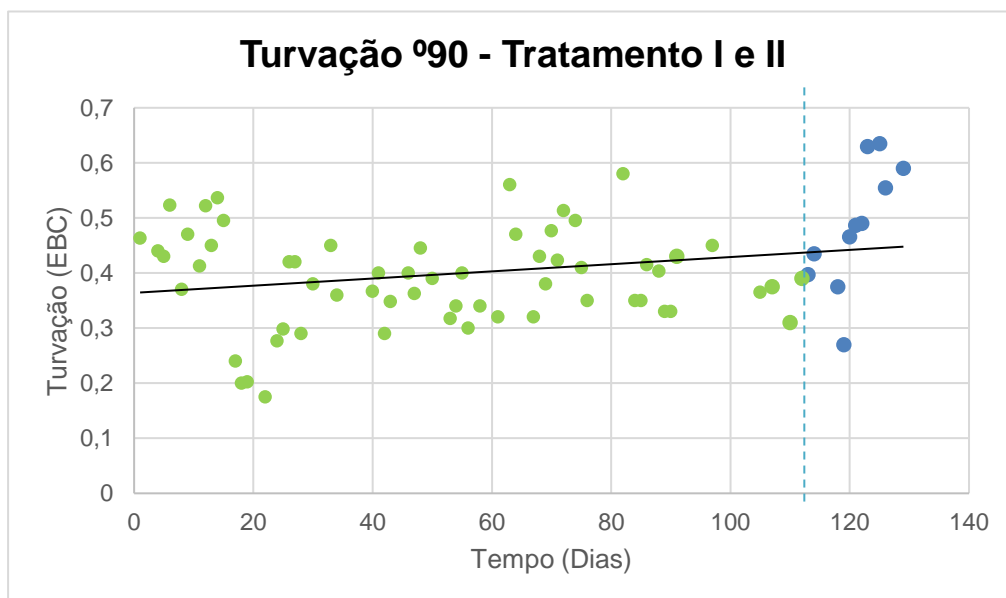
## 4.2 TANQUES DE CERVEJA FILTRADA

Nos tanques de cerveja filtrada, foi analisada a turvação  $^{\circ}90$  e a turvação  $^{\circ}25$ , em Cerveja Nacional e em Cerveja de Exportação, sendo que a diferença entre ambas é a adição de PVPP durante o processamento da cerveja de exportação (v. **Tabela 3.2**). O PVPP é utilizado como agente estabilizante, devido à sua capacidade de se ligar aos polifenóis activos (Withouck, 2010). Este é um adsorvente de grande peso molecular e a sua estrutura assemelha-se bastante à do aminoácido prolina, capaz de se ligar selectivamente aos polifenóis responsáveis pela névoa permanente e pela turbidez a frio. O PVPP pode ser utilizado de duas formas, na fabricação de cerveja: 1) na forma de pó, fornecido para uso único; em que as suas partículas são muito pequenas mas abrangem uma grande área de superfície. Se forem adicionadas doses inferiores a 10 g/hl, recomenda-se o uso combinado com sílica gel (Mastanjević, 2018). 2) em forma de partículas maiores mas abrangendo uma menos área, o que pode implicar a absorvência de menor quantidade de compostos fenólicos (Mastanjević, 2018).

### 4.2.1 CERVEJA NACIONAL

Os resultados obtidos termos de turvação  $^{\circ}90$ , para a cerveja nacional, encontram-se nas **Figuras 4.9-4.18**.

Foi realizada uma Análise ANOVA de factor único aos tratamentos aplicados aos Tanques de Cerveja Filtrada – Cerveja Nacional. Esta análise demonstrou a existência de diferenças significativas entre as variâncias dos valores da variável em estudo (Turvação  $^{\circ}90$ ), uma vez que  $p(0,001) < 0,05$  e  $F(4,95) > F_{\text{crítico}}(2,46)$ .

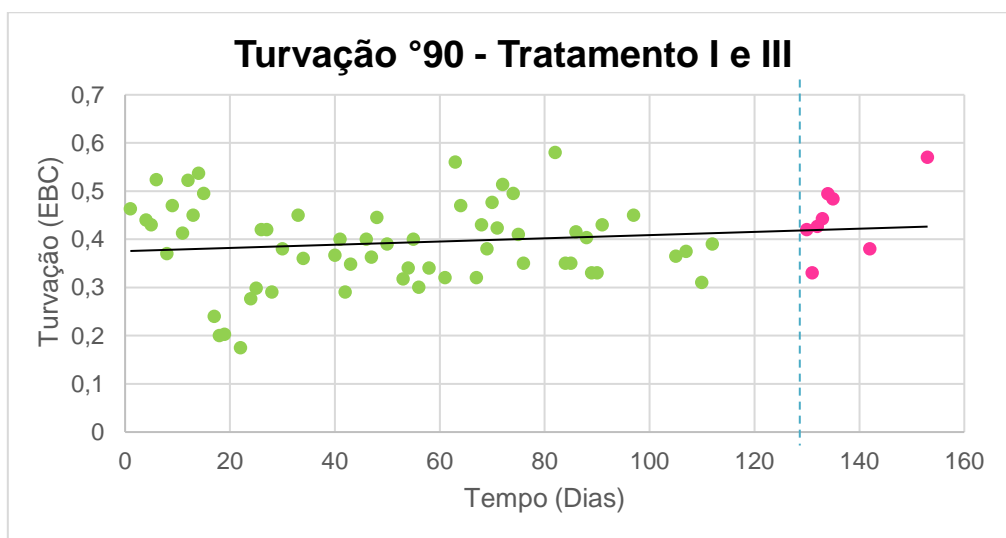


**Figura 4.9** – Comparação da Turvação  $^{\circ}90$  entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja Nacional)

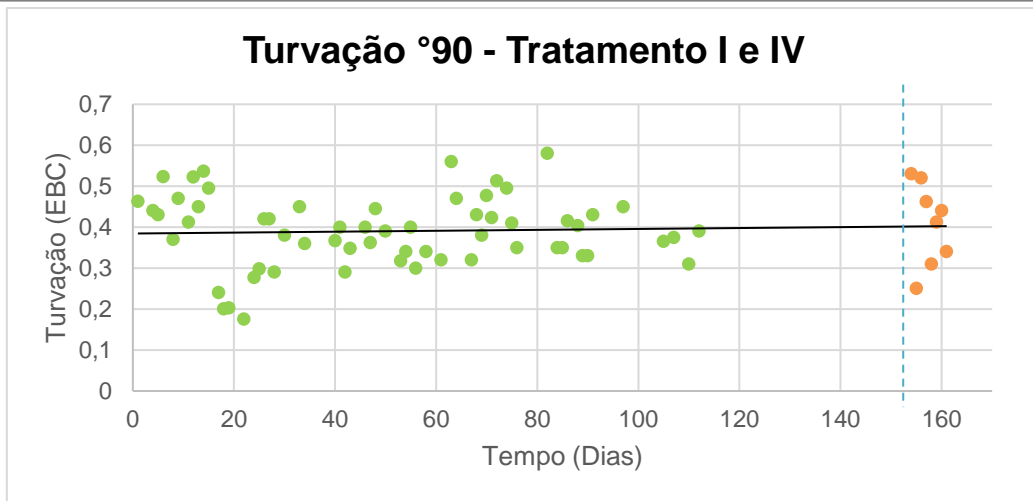
A Análise ANOVA realizada entre os Tratamentos I e II demonstrou que, como  $p(0,002) < 0,05$  e  $F(10,32) > F_{\text{crítico}}(3,98)$ , existem diferenças significativas entre a Turvação °90 destes dois Tratamentos. Através da observação da linha de tendência (**Figura 4.9**), também é possível observar que existe uma ligeira subida na Turvação °90. O facto da turvação ter aumentado entre os Tratamentos I e II também pode justificada pelo facto de existirem poucos dados relativamente ao Tratamento II.

Apesar de no Tratamento II já se ter começado a introduzir o BrewsClarex, retirou-se a adição da papaínase, enzima responsável por degradar compostos proteicos de alto peso molecular, de modo a que estes fiquem indisponíveis para formar complexos agregados aos polifenóis (Reinold, 2012). Portanto, neste caso, a substituição de BrewsClarex pela papaínase, embora a BrewsClarex também tenha como objectivo hidrolisar proteínas, não parece ter resultado tão bem na redução da turvação.

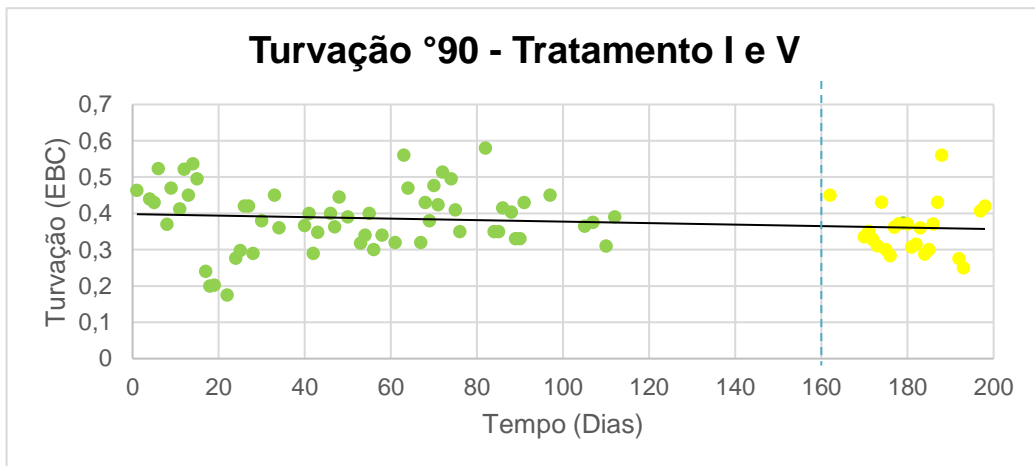
No entanto, não se verificam diferenças entre o tratamento I e os tratamentos III, IV e V (**Figura 4.10**, **Figura 4.11** e **Figura 4.12**), em que se substituiu a papaínase pelo Brews Clarex, tal como no tratamento II, mas em que se eliminou um dos auxiliares de estabilização (no tratamento III, a papaínase no filtro, e no tratamento IV, e V a papaínase e a sílica gel). Com esta informação é possível concluir que a substituição de papaínase em trasfega à guarda por BrewsClarex não teve efeito a nível da Turvação °90, nos TCF's (Cerveja Nacional), em especial nos tratamento III, IV e V.



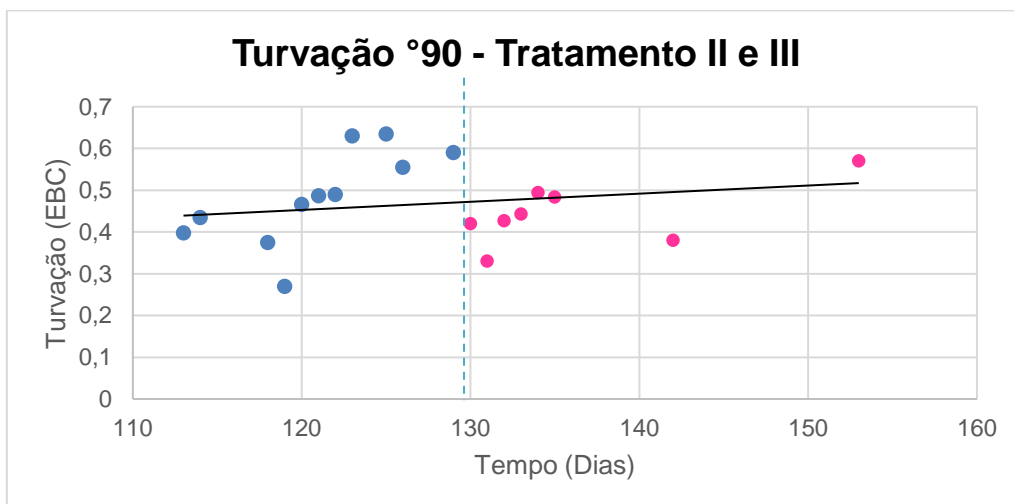
**Figura 4.10** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Rosa) (Cerveja Nacional)



**Figura 4.11** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

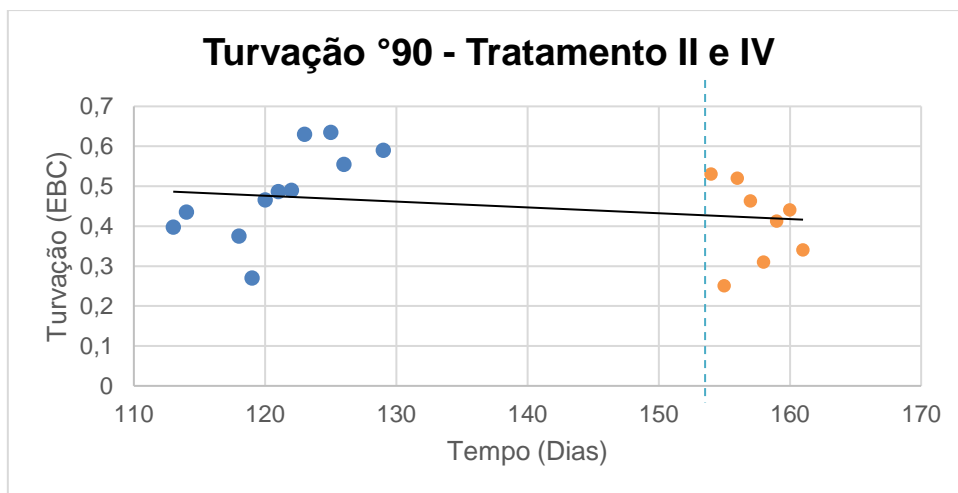


**Figura 4.12** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)



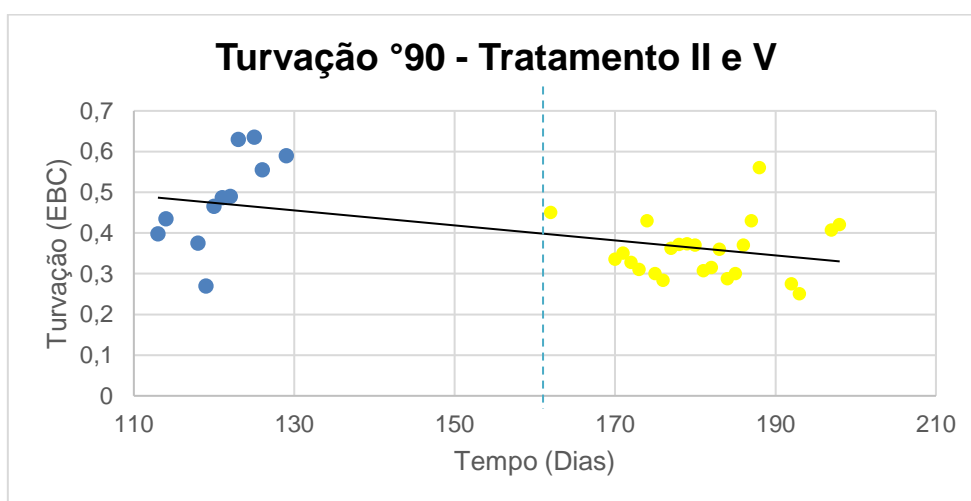
**Figura 4.13** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Rosa) e III (Rosa) (Cerveja Nacional)

A nível de cerveja nacional, os estabilizantes empregues nos Tratamentos II e III diferem no facto de ter sido retirada a adição de papaínase no Tratamento III, não se tendo verificado a existência de diferenças significativas. Apesar se não ter verificado diferenças significativas, a linha de tendência da **Figura 4.13** mostra uma tendência crescente da Turvação °90, o que indica que a papaínase terá efeitos positivos na diminuição da Turvação.



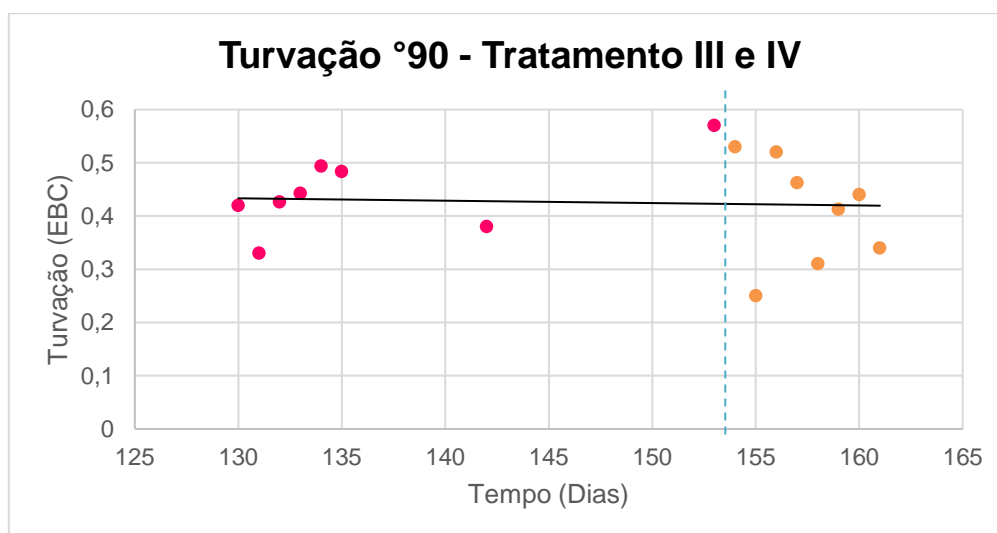
**Figura 4.14** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

Relativamente aos Tratamentos II e IV (**Figura 4.14**), a linha de tendência mostra um efeito decrescente bastante ténue, sendo que não existem diferenças significativas. Entre os Tratamentos II e IV, na cerveja nacional eram empregues sílica-gel, papaínase e manucol (Tratamento II) e no Tratamento IV passou apenas a utilizar-se manucol. Com o descréscimo na turvação no Tratamento IV, poderá querer dizer que apenas o manucol é necessário para diminuir a turvação, no entanto, não foram detectadas diferenças significativas.



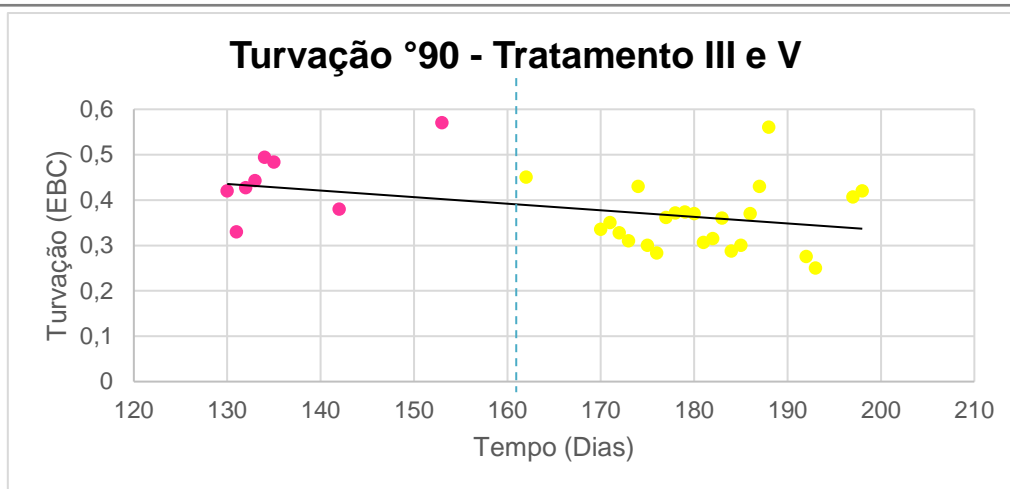
**Figura 4.15** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

Através da Análise ANOVA entre os Tratamentos II e V (**Figura 4.15**) é possível verificar a existência de diferenças significativas entre os valores da variância da variável em estudo: Turvação °90. Verificou-se que  $p < 0,05$  e  $F > F_{\text{crítico}}$ . Através da observação da linha de tendência da **Figura 4.15** conclui-se que a turvação °90 tende a diminuir. Entre os Tratamentos II e V, na cerveja nacional eram empregues sílica-gel, papaínase e manucol (Tratamento II) e no Tratamento V passou apenas a utilizar-se manucol. O alginato de propileno-glicol apresenta características melhores, especialmente em meios ácidos e com elevadas concentração de sal (Zuppardo, 2010). Apesar do Tratamento V só se utilizar manucol e a turvação ser inferior à do Tratamento II onde também se utilizam sílica-gel e papaínase, segundo CTS (2014), a sílica-gel tem como problemas possíveis: contaminação microbiana (que influencia a turvação); diminuição da espuma e do corpo da cerveja. Para além disto, a papaínase apresenta como desvantagens o facto de possuir a tendência para se dissolver na cerveja (Mastanjević, 2018) e ainda o facto de degradar compostos que estabilizam espuma o que pode explicar as diferenças de II para IV (em que a redução da turvação em IV não é estatisticamente significativa) e V (em que a redução da turvação em V é estatisticamente significativa (Reinold, 2012)).



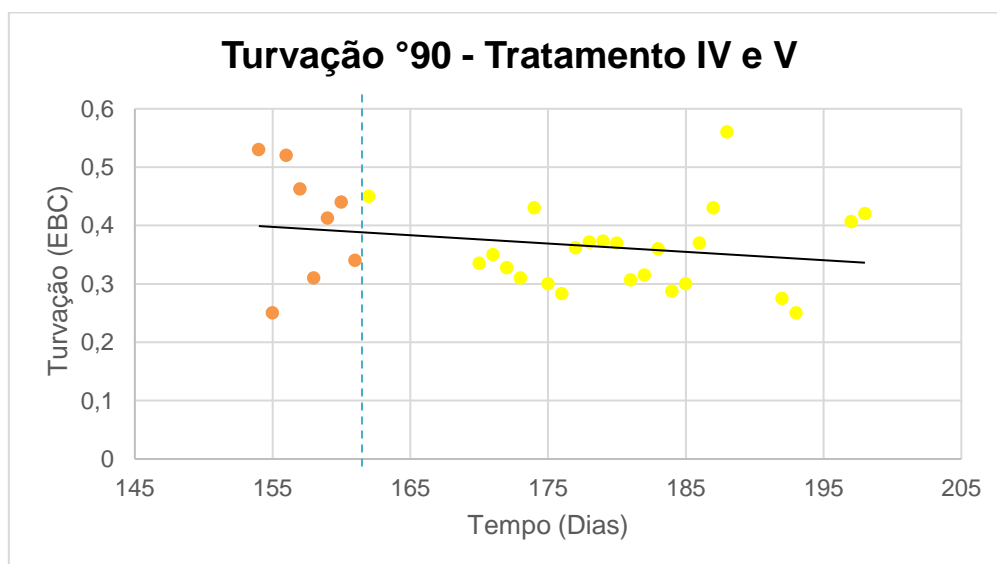
**Figura 4.16** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

Através da observação da linha de tendência da **Figura 4.16**, é possível verificar que a Turvação °90 em Cerveja Nacional entre os Tratamentos III e IV praticamente se mantém. Do Tratamento III para o IV é retirada apenas a adição de sílica-gel, o que indica que a sílica-gel não apresenta efeitos a nível da redução da turvação (em princípio, a sílica-gel apenas vai estabilizar as proteínas responsáveis pela espuma). A comparação entre os dois Tratamentos referidos não revelou a existência de diferenças significativas.



**Figura 4.17** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

Através da Análise ANOVA entre os Tratamentos III e V (**Figura 4.17**) é possível verificar a existência de diferenças significativas entre os valores da variância da variável em estudo: Turvação °90. Verificou-se que  $p < 0,05$  e  $F > F_{\text{crítico}}$ . Através da observação da linha de tendência da **Figura 4.17** conclui-se que a turvação °90 tende a diminuir. Relativamente ao Tratamento III e V, a diferença mantém-se na remoção de sílica-gel no V. Este resultado vem confirmar que a utilização de BrewsClarex para a hidrólise de proteínas, eliminando a possibilidade da sua ligação a polifenóis, e a utilização de manucol, que permite a estabilização de espuma, é a combinação que melhor resulta em termos de redução de turvação.



**Figura 4.18** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

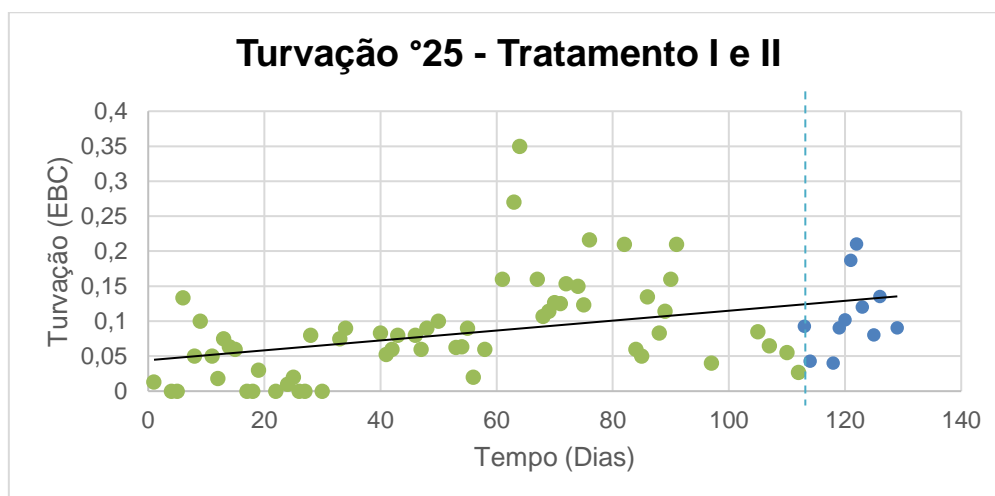
Entre os Tratamentos IV e V não existem diferenças significativas, o que seria expectável, uma vez que ambos os tratamentos são iguais, a nível da Cerveja Nacional (**Figura 4.18**).

As **Figuras 4.19 - 4.28** dizem respeito aos dados de Turvação °25, para a Cerveja Nacional.

Foi efetuada uma Análise ANOVA à variável Turvação °25 em Tanques de Cerveja Filtrada (Cerveja Nacional), em que se verificou que  $p < 0,05$  e  $F > F_{\text{crítico}}$ , ou seja, existem diferenças significativas entre os valores da variância da variável em estudo. Posto isto, procedeu-se a análises ANOVA a todos os tratamentos, de modo a perceber entre quais existiam diferenças significativas.

Desta análise retirou-se que existem diferenças significativas entre os Tratamentos I e III e III e V. Nas restantes comparações verificou-se que  $p > 0,05$  e  $F < F_{\text{crítico}}$ , o que leva a concluir que não existem diferenças significativas. Nesta análise dos resultados da Turvação a °25, alguns dos aspectos justificativos já foram apresentados na análise da Turvação a °90 e, genericamente, e para não tornar o documento repetitivo, podem ser omitidos.

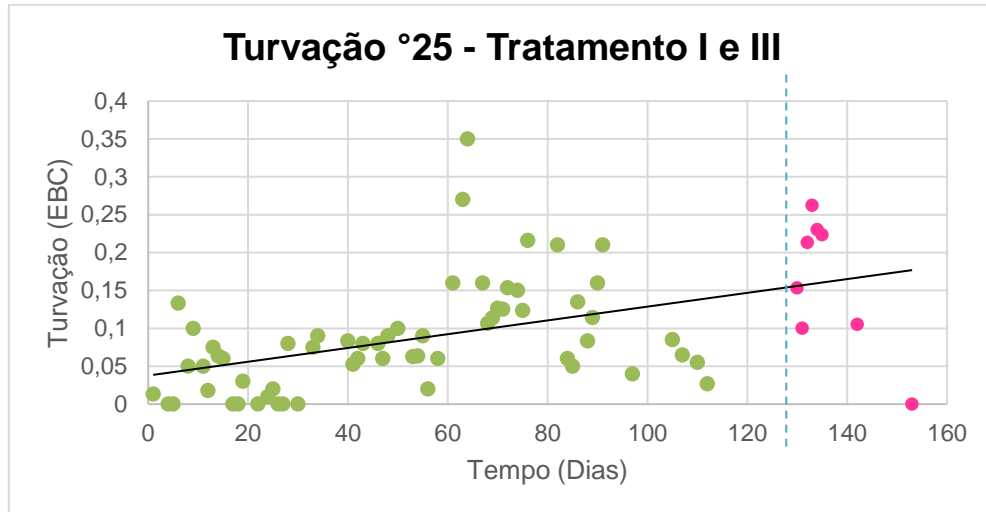
Através da observação da linha de tendência dos gráficos abaixo, pode concluir-se que a substituição da papaínase em trasfega à guarda pela BrewsClarex não teve efeitos positivos a nível da Turvação °25, nos TCF (Cerveja Nacional), em todos os Tratamentos – II, III, IV e V, uma vez que a turvação aumentou em todos (**Figura 4.19**, **Figura 4.20**, **Figura 4.21** e **Figura 4.22**), embora, tal como anteriormente referido, só com significado estatístico entre o Tratamento I e o III.



**Figura 4.19** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja Nacional)

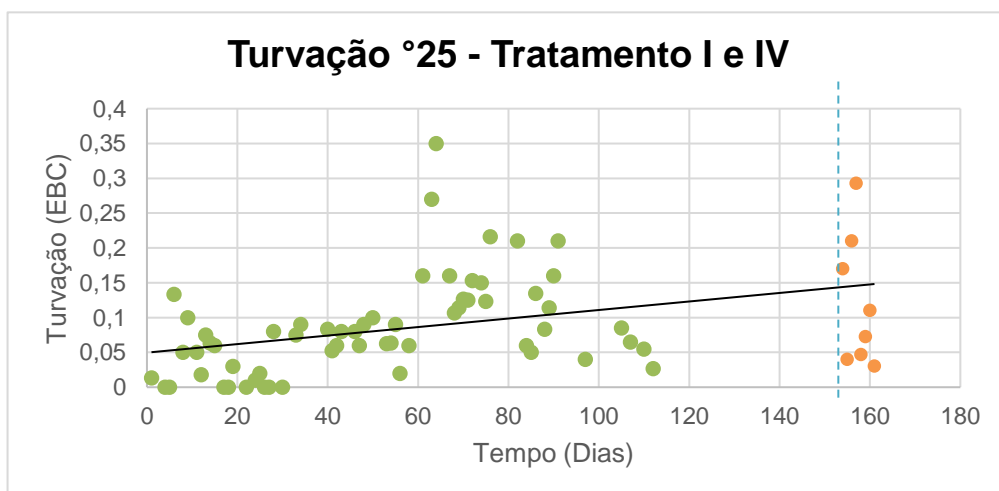
Entre os Tratamentos I e II (**Figura 4.19**), a única alteração que existe é a substituição de papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I). Para além da comparação entre tratamentos não revelar diferenças significativas, a turvação tem tendência a subir. Apesar de no Tratamento II se ter começado a introduzir o BrewsClarex em mostos, retirou-se a adição da papaínase. Durante a fermentação e a maturação da cerveja dá-se a formação de “redes coloidais”, que podem precipitar e causar a turvação da cerveja. Estes precipitados coloidais são fracções de compostos coloidais (polifenóis e proteínas). A acção da papaínase procura a

estabilização da cerveja por meio da hidrólise destes compostos (Rehmanji et al., 2005). A sua remoção (embora com substituição pela adição de BrewsClarex), não resultou na diminuição da turvação. Neste caso, embora o BrewsClarex também tenha como objectivo a hidrólise de proteínas, não parece ter resultado tão bem na redução da turvação como a papaínase.



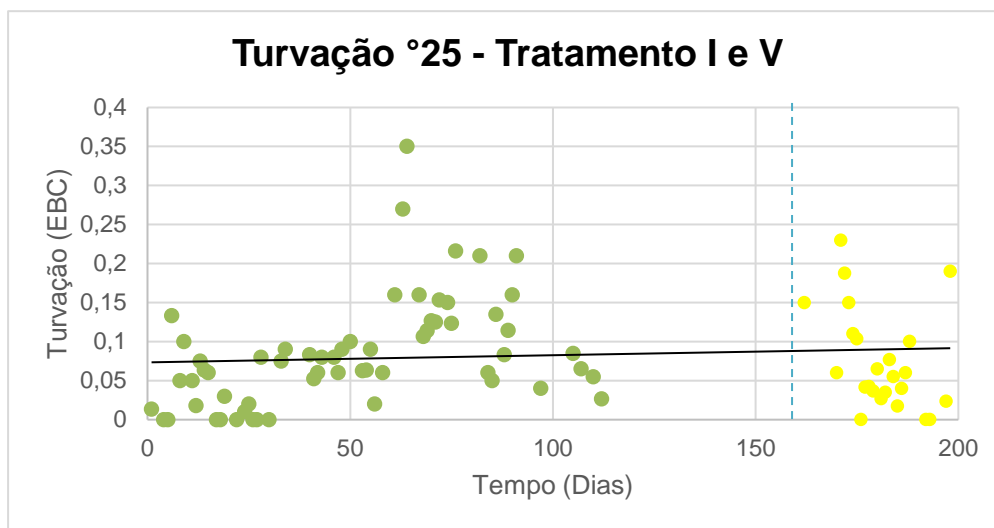
**Figura 4.20** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja Nacional)

Relativamente à Turvação °25 nos Tratamentos I e III, através da Análise ANOVA, verificou-se a existência de diferenças significativas. Observa-se ainda que a linha de tendência sobe (Figura 4.20). No Tratamento I, ainda não era utilizado o BrewClarex mas em Cerveja Nacional eram empregues papaínase, sílica-gel e manucol. No Tratamento III, apesar de já ser utilizado BrewsClarex, deixou de se utilizar papaínase, o que poderá ter levado ao aumento da turvação °25. No entanto, se considerarmos na comparação apenas os últimos resultados do Tratamento I, a significância da diferença na turvação deixa de ter significado.



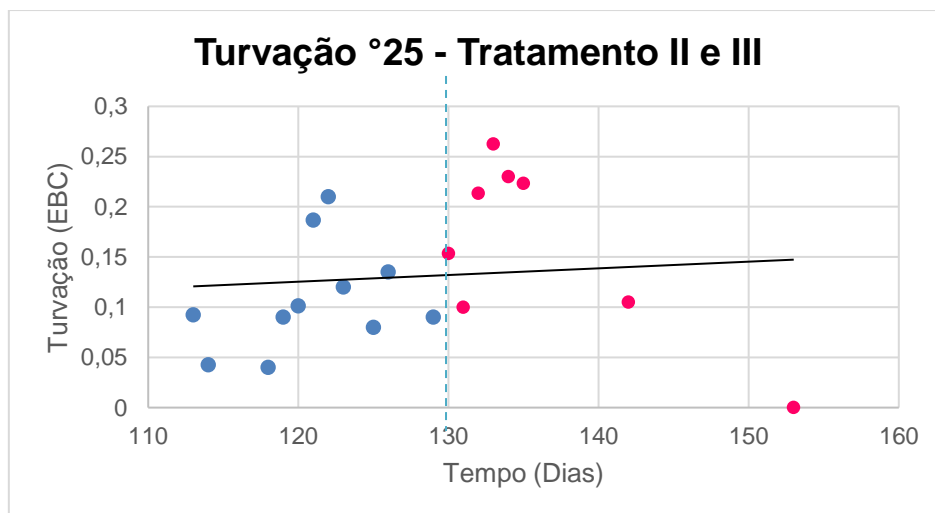
**Figura 4.21** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

Relativamente à **Figura 4.21**, que diz respeito à comparação entre os Tratamentos I e IV, não se verificou a existência de diferenças significativas a nível da Turvação °25 nos TCF's (Cerveja Nacional). De qualquer modo, é possível verificar pela linha de tendência que a turvação tende a aumentar, facto que pode ser justificado com o facto de no Tratamento IV apenas ser empregue BrewsClarex (em mostos) e manucol.



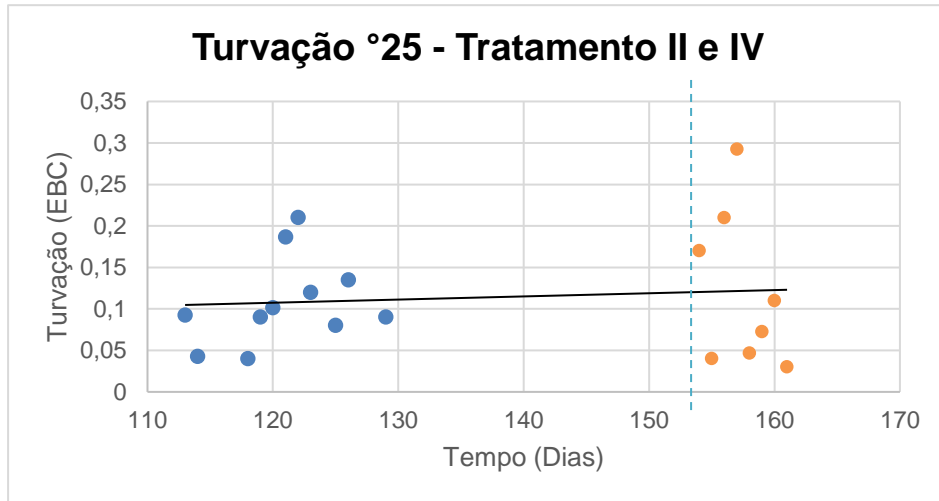
**Figura 4.22** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

Relativamente aos Tratamentos I e V (**Figura 4.22**), não se verificou a existência de diferenças significativas a nível da Turvação °25 nos TCF's (Cerveja Nacional). e no Tratamento V apenas foi empregue BrewsClarex (em mostos) e manucol.



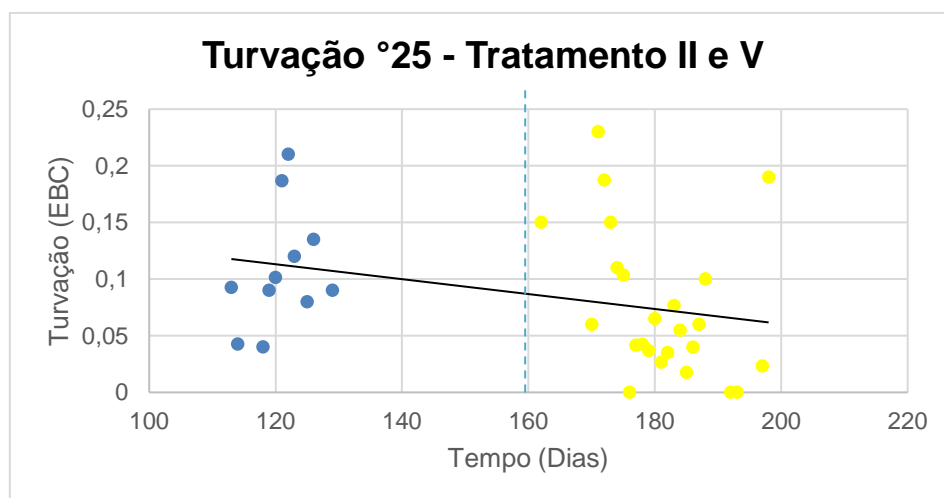
**Figura 4.23** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

Relativamente aos Tratamentos II e III (Figura 4.23), a análise ANOVA não revelou a existência de diferenças significativas. No entanto, a linha de tendência evidencia a subida da turvação no Tratamento III, onde foi retirada a adição de papaínase. Esta informação indica que a papaínase terá efeitos positivos na diminuição da turvação.



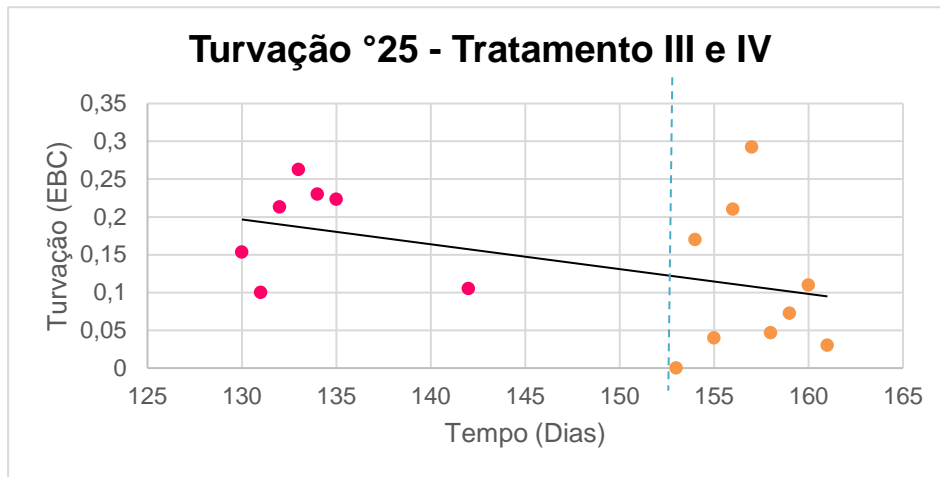
**Figura 4.24** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

Relativamente aos Tratamentos II e IV (**Figura 4.24**), não se verificou a existência de diferenças significativas a nível da Turvação °25 nos TCF's (Cerveja Nacional). No Tratamento IV apenas foi empregue BrewsClarex (em mostos) e manucol, e o resultado obtido indica que esta combinação poderá ser suficiente para igualar os resultados obtidos no Tratamento II, muito provavelmente devido à acção do manucol que actua como estabilizante de espuma (Zuppardo, 2010).



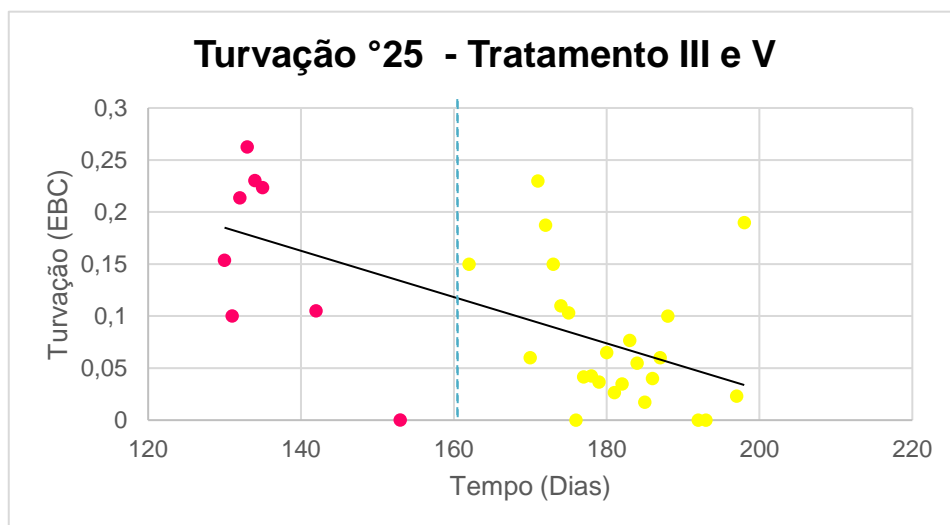
**Figura 4.25** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

Relativamente aos Tratamentos II e V (**Figura 4.25**), não se verificou a existência de diferenças significativas a nível da Turvação °25 nos TCF's (Cerveja Nacional). A linha de tendência da **Figura 4.25** revela uma tendência da turvação para diminuir, tal como observado na turvação a °90. Através desta observação é possível verificar que a aplicação do manucol (e sem adição de papaínase e sílica-gel) apresenta-se como uma opção tecnológica que tendencialmente contribui para a diminuição da turvação da cerveja (e em que o BresClarex também é adicionado). A comparação entre os Tratamentos III e IV e III e V vem demonstrar o mesmo.



**Figura 4.26** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

A comparação de dados da turvação °25 em TCF's (Cerveja Nacional) entre os Tratamentos III e IV (Figura 4.26) não revelou a existência de diferenças significativas. Apesar disto, a linha de tendência evidencia um decréscimo no Tratamento IV, ou seja, ao ser retirada a sílica-gel, a acção do manucol apenas contribui para a redução da turvação.

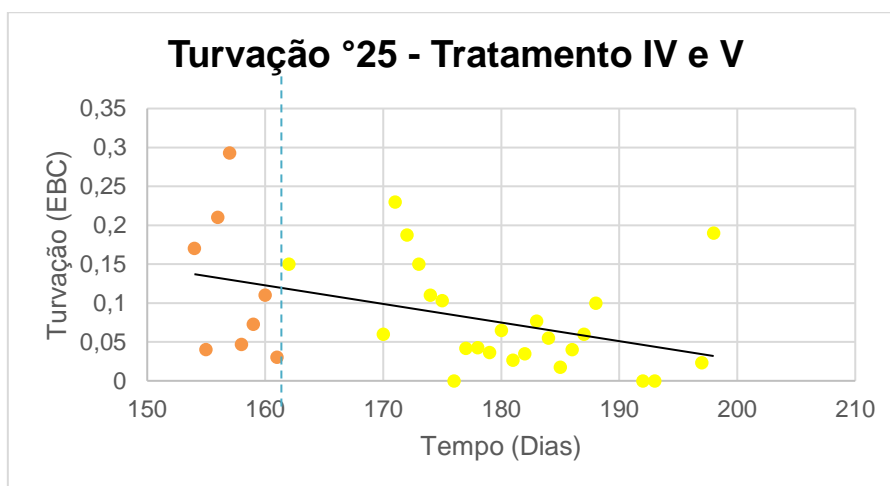


**Figura 4.27** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Laranja) (Cerveja Nacional)

Como já foi referido anteriormente, a análise ANOVA revelou a existência de diferenças significativas entre os valores de Turvação °25 nos TCF's (Cerveja Nacional) entre os Tratamentos III e V (Figura 4.27), em que a tendência é a diminuição da Turvação.

Entre os Tratamentos III e V a única diferença reside no facto de no Tratamento V não ser adicionada Sílica-gel mas apenas BrewsClarex e manucol. Com isto, a conclusão de que a adição de BrewsClarex e manucol é uma opção tecnológica favorável à diminuição da turvação da cerveja, é reforçada. O manucol faz parte do grupo dos alginatos, que são utilizados como aditivos alimentares para melhorar, modificar e estabilizar a textura, através das suas propriedades físicas, bem como das interações com outros componentes do produto, como proteínas (Barros-Santos, 2012) e que é utilizado para a estabilização da espuma da cerveja, contribuindo deste modo para a redução da turvação.

Apesar de nos Tratamentos IV e V se utilizar apenas manucol em filtro, verifica-se que a turvação tende a diminuir, contrariamente ao Tratamento III, o que corrobora o facto da sílica-gel (empregue no Tratamento III, juntamente com manucol) apresentar desvantagens (CTS, 2014).



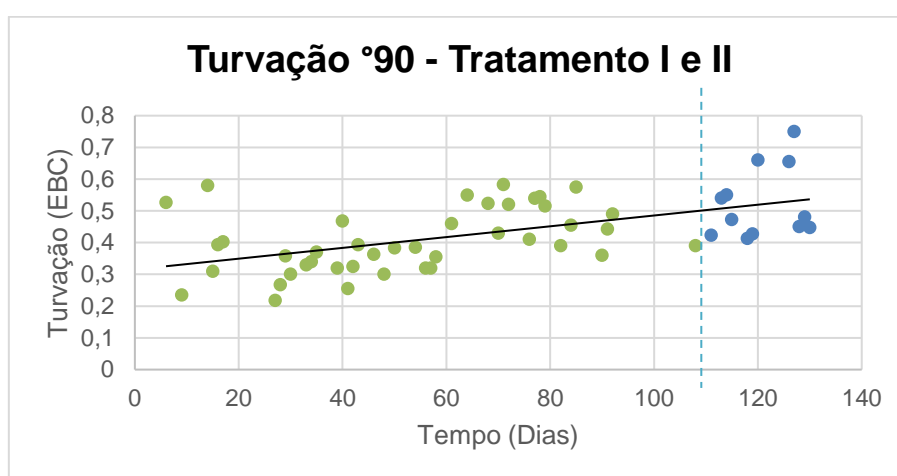
**Figura 4.28** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

Entre os Tratamentos IV e V (**Figura 4.28**), não existem diferenças significativas entre as variâncias dos valores da variável em estudo – Turvação °25 -, o que seria expectável, uma que em termos de Cerveja Nacional, os dois tratamentos são iguais. Apesar disto, a linha de tendência é decrescente, o que indica que os valores de turvação estão a diminuir, facto que poderá ser explicado por factores externos que têm acção sobre a turvação, tais como: presença de amido residual, pentosanas,  $\beta$ -glucanos, hidratos de carbono e proteínas, lubrificantes, metais, contaminantes, pH (Mastanjević, 2018).

## 4.2.2 CERVEJA DE EXPORTAÇÃO

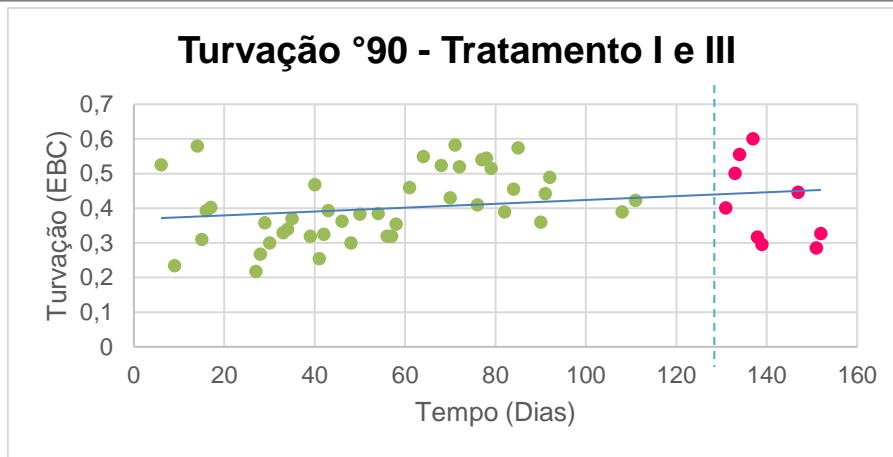
Relativamente aos Tanques de Cerveja Filtrada para Exportação, são apresentados nas Figuras abaixo os gráficos correspondentes às comparações efetuadas entre tratamentos. As **Figuras 4.29 - 4.38** dizem respeito às comparações efetuadas entre Turvações °90.

Após a Análise ANOVA efetuada à Turvação °90 entre os diferentes tratamentos, nos Tanques de Cerveja Filtrada (Cerveja de Exportação), verificou-se que existem diferenças significativas entre os valores da variância da variável em estudo, pois  $p < 0,05$  e  $F > F_{\text{crítico}}$ . Entre os Tratamentos I e II; I e V; II e III; II e IV; II e V; III e V e IV e V verificou-se a existência de diferenças significativas, ao passo que entre os Tratamentos I e III; I e IV e III e IV não existem diferenças significativas.



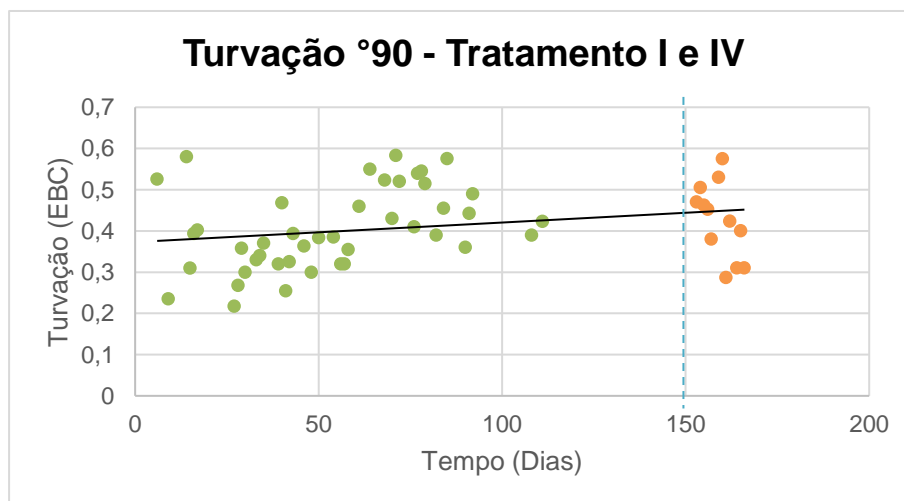
**Figura 4.29** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos I e II (**Figura 4.29**), deixou de se utilizar papaínase e passou a utilizar-se apenas BrewsClarex, o que não terá sido eficaz, uma vez que a Turvação °90 aumentou de forma significativa; nos Tratamentos I e II, inicialmente para cerveja de exportação eram adicionados Sílica-gel, Papaínase; Manuacol e PVPP no Tratamento I, sendo que no II se manteve a mesma adição. A diferença entre ambos tratamentos resultou apenas na substituição de papaínase em filtro por BrewsClarex, a qual não teve efeitos a nível da diminuição da Turvação °90 nos TCF's (Cerveja de Exportação). O mesmo resultado tinha sido observado na Cerveja nacional.



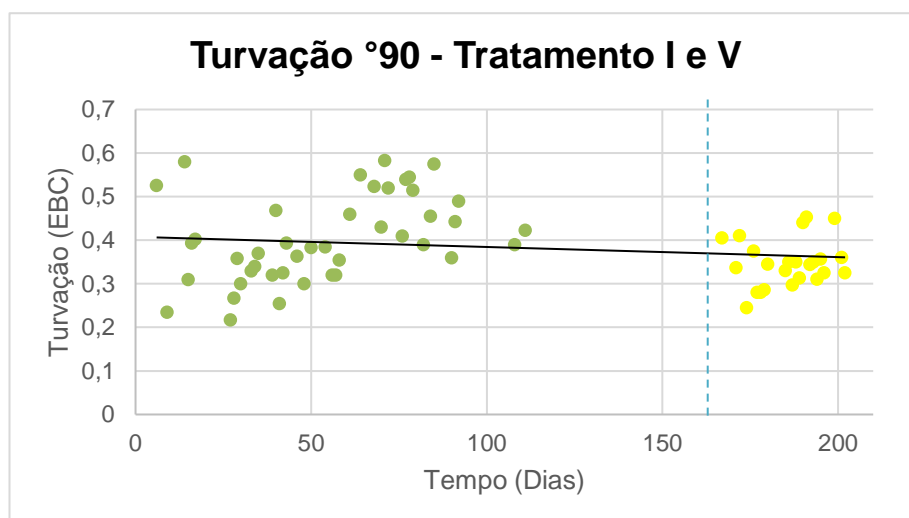
**Figura 4.30** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação)

Entre os Tratamentos I e III, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento III), bem como foi retirada a adição de papaínase, no Tratamento III. A comparação entre dois Tratamentos não revelou a existência de diferenças significativas mas mostrou uma tendência para o aumento da Turvação °90. Este aumento da turvação pode dever-se a dois motivos: 1) substituição da papaínase em trasfega por BrewsClarex em mostos; 2) retirada da papaínase em filtro, no Tratamento III.



**Figura 4.31** - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

No caso dos Tratamentos I e IV (**Figura 4.31**), no caso da cerveja de exportação, no Tratamento I eram empregues sílica-gel, papaínase, manucol e PVPP, tendo sido retirados a papaínase e o manucol no Tratamento IV, o que não terá sido eficaz, uma vez que apesar de não se ter verificado a existência de diferenças significativas, a linha de tendência mostra uma ligeira tendência de subida da Turvação °90.

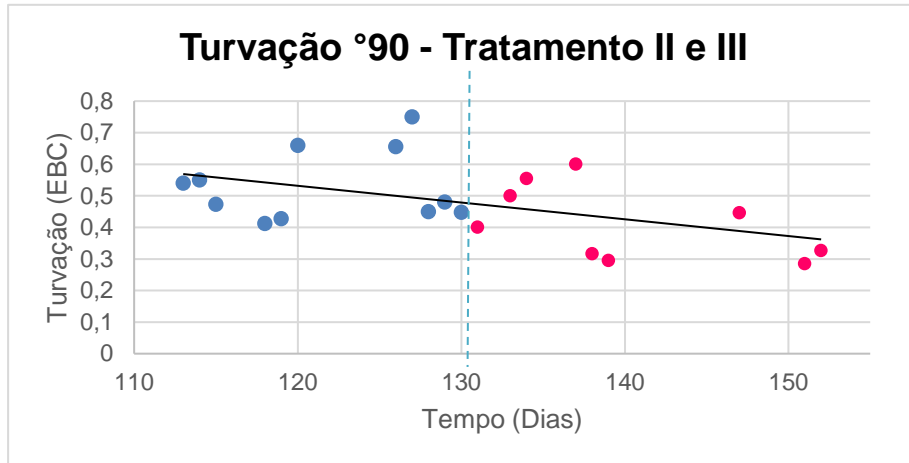


**Figura 4.32** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Nos Tratamentos I e V (Figura 4.32), a análise ANOVA revelou a existência de diferenças significativas, sendo que a linha de tendência é decrescente. Entre os Tratamentos I e V, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento V). No caso da cerveja de exportação, no Tratamento I eram empregues papaínase, sílica-gel, manucol e PVPP, ao passo que no Tratamento V foi retirada a adição de manucol, o que terá tido um efeito positivo a nível da diminuição da turvação nos TCF's (Cerveja de Exportação).

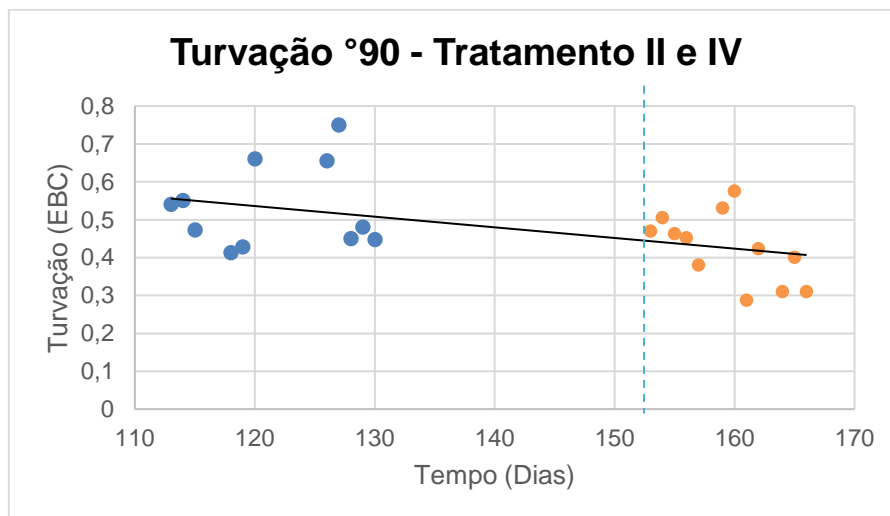
O grau de estabilidade de uma cerveja depende do tempo de armazenamento depois do enchimento e do tempo de prateleira, pelo que se utilizam técnicas e procedimentos chamadas de “*Chillproofing*”, que têm como objetivo eliminar uma parte das proteínas e polifenóis capazes de causar turvação, sem afectar as características da cerveja (espuma, cor e sabor). Alguns estabilizantes empregues também proporcionam estabilidade de sabor e retardam o envelhecimento. Algumas técnicas de “*Chillproofing*” são: 1) adição de enzimas proteolíticas (papaína, bromelaína e pepsina), que degradam e modificam as moléculas de proteínas, para evitar que se combinem com os polifenóis; 2) adsorção de proteínas utilizando hidrogéis (sílica-gel), que adsorvem as proteínas responsáveis pela turvação, eliminando-as por filtração; 3) adsorção de polifenóis, usando um polímero insolúvel (PVPP), que adsorve exclusivamente os polifenóis (Rios, 2008).

Uma vez que a turvação resulta da combinação entre as proteínas e polifenóis, a solução mais eficaz em termos da redução da turvação é a adição de estabilizantes que eliminem estes componentes ou que evitem que estes se agreguem. A nível da cerveja de exportação, como foi possível observar, a técnica que melhor resulta é a adição de sílica-gel, papaína e PVPP. O facto da adição de manucol não ter efeitos positivos na diminuição da turvação em cerveja de exportação está relacionado com o facto deste estabilizante estar mais direccionado para estabilização de espuma da cerveja (Zuppardo, 2010).



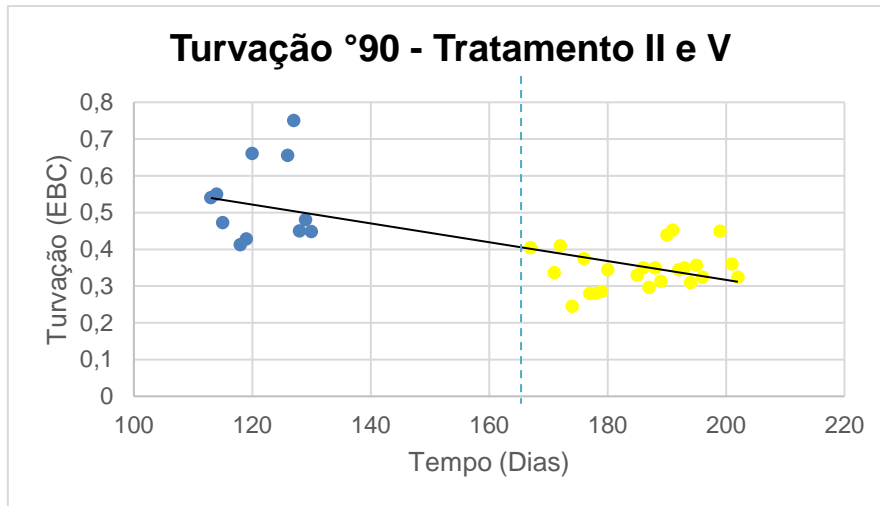
**Figura 4.33** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos II e III (**Figura 4.33**), a turvação tem tendência a diminuir, apresentando diferenças significativas. No caso da cerveja de exportação, eram adicionados sílica-gel, papaínase, manucol e PVPP (Tratamento II) e retirou-se a papaínase no Tratamento III.



**Figura 4.34** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

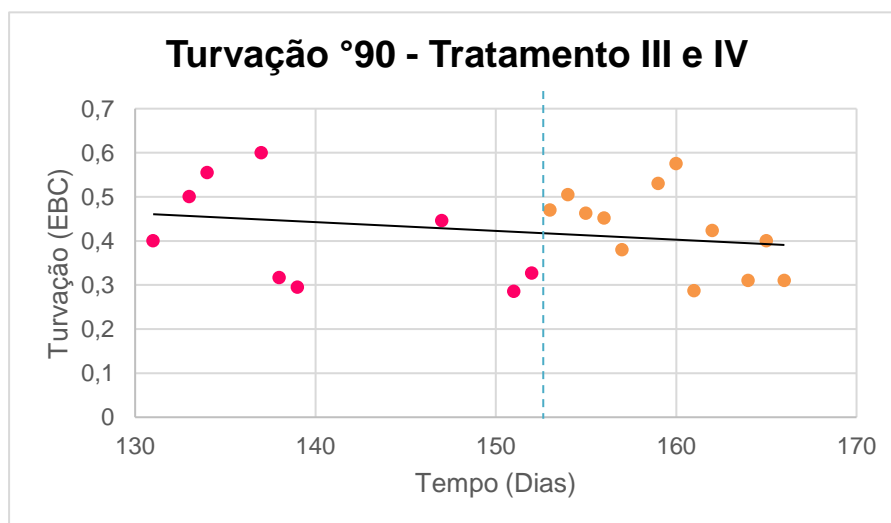
Comparando os Tratamentos II e IV, neste último, foi deixado de ser aplicado manucol e papaínase em Cerveja de Exportação, o que terá tido uma influência positiva a nível de turvação, pois a linha de tendência decresce (**Figura 4.34**). Passou apenas a utilizar-se sílica-gel e PVPP (Tratamento IV), sendo que a sílica-gel adsorve as proteínas responsáveis pela turvação e o PVPP adsorve os polifenóis (Rios, 2008).



**Figura 4.35** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

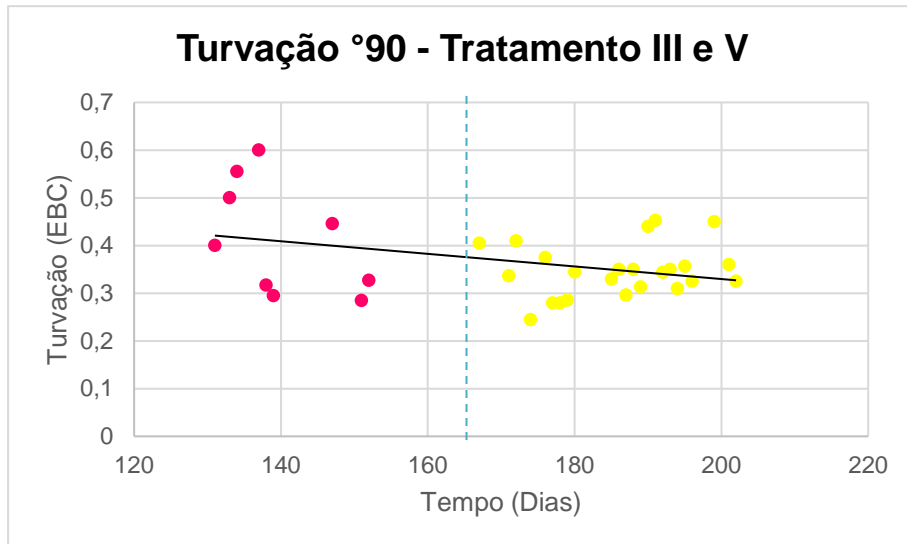
Observando a linha de tendência entre a comparação dos Tratamentos II e V (**Figura 4.35**), observa-se que esta variável tem tendência a diminuir, existindo diferenças significativas.

Através da comparação das **Figuras 4.33, 4.34 e 4.35**, em que se compara o Tratamento II com os Tratamentos III, IV e V, respectivamente, conclui-se que o Tratamento II é o menos eficaz, comparativamente aos Tratamentos III, IV e V.



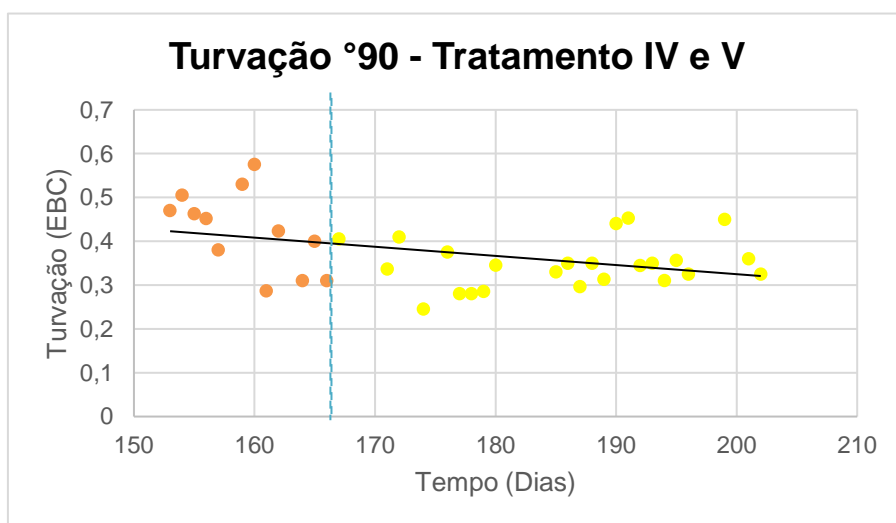
**Figura 4.36** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

Em relação aos Tratamentos III e IV (**Figura 4.36**), não se verificou a existência de diferenças significativas, sendo que a única diferença reside no facto de ter sido retirado o manucol no Tratamento IV, o que indica que a adição deste estabilizante é dispensável, a nível da diminuição da turvação da Cerveja de Exportação, uma vez que a sua ação se relaciona com a estabilidade da espuma no produto final e maior protecção contra agentes redutores de espuma (Prozyn, 2018).



**Figura 4.37** – Comparação da Turvação  $^{\circ}90$  entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Em relação aos Tratamentos III e V (**Figura 4.37**), em Cerveja de Exportação, foi substituído o mancol por papaínase, o que revelou uma diminuição a nível da turvação  $^{\circ}90$ . Esta comparação revelou a existência de diferenças significativas entre as variâncias dos valores da variável em estudo – Turvação  $^{\circ}90$  -, em TCF's (Cerveja de Exportação). Esta informação vai ao encontro do facto do mancol ser dispensável a nível de diminuição da turvação, mas a papaínase ser necessária. Segundo Machecha e colaboradores (2011), num teste de clarificação de cerveja, verificou-se a efectividade da papaína na ruptura de proteínas de elevado peso molecular, causadoras de turvação. Comparando a efetividade do mancol e da papaínase em termos de cerveja de exportação, verifica-se que a papaínase é mais eficaz, o que faz sentido, uma vez que a ação do mancol se relaciona com a estabilidade da espuma no produto final e maior protecção contra agentes redutores de espuma (Prozyn, 2018).



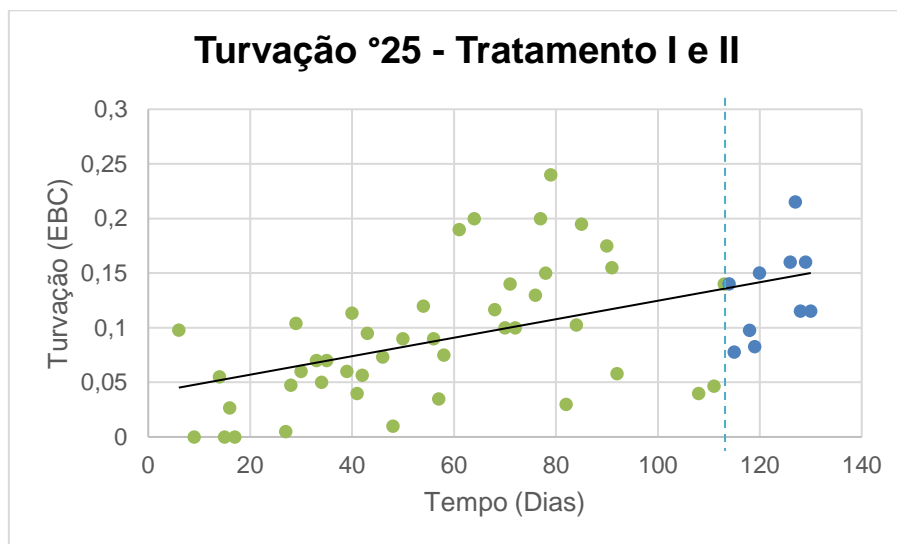
**Figura 4.38** – Comparação da Turvação  $^{\circ}90$  entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Para Cervejas de Exportação, a comparação entre os Tratamentos IV e V (**Figura 4.38**) revelou a diminuição da turvação  $^{\circ}90$ , uma vez que foi adicionada papaínase no Tratamento V. Com isto, verifica-se que a opção de adição de sílica-gel, papaínase e PVPP é uma opção tecnológica que resulta na diminuição significativa da Turvação a  $^{\circ}90$  da cerveja de exportação, podendo a adição de manucol ser dispensável, uma vez que este último atua maioritariamente sobre a estabilidade da espuma. Seria interesse saber qual a composição em termos de proteínas e polifenóis de cada tipo de cerveja – Nacional ou de Exportação -, de modo a perceber se a efetividade da papaínase combinada com sílica-gel e PVPP a nível da Cerveja de Exportação se deve ao facto de estar presente o PVPP (o que não acontece na Cerveja Nacional), responsável pela adsorção de polifenóis, ou se deve à própria composição da cerveja.

Nos Tanques de Cerveja Filtrada, na Cerveja de Exportação, foi também analisada a Turvação  $^{\circ}25$ . As comparações desta variável encontram-se nas **Figuras 4.39 – 4.48**.

Foi efetuada uma Análise ANOVA à variável Turvação  $^{\circ}25$  em Tanques de Cerveja Filtrada (Cerveja de Exportação), em que se verificou que  $p < 0,05$  e  $F > F_{\text{crítico}}$ , ou seja, existem diferenças significativas entre os valores da variância da variável em estudo. Posto isto, procedeu-se a análises ANOVA a todos os tratamentos, de modo a perceber entre quais existia diferenças significativas.

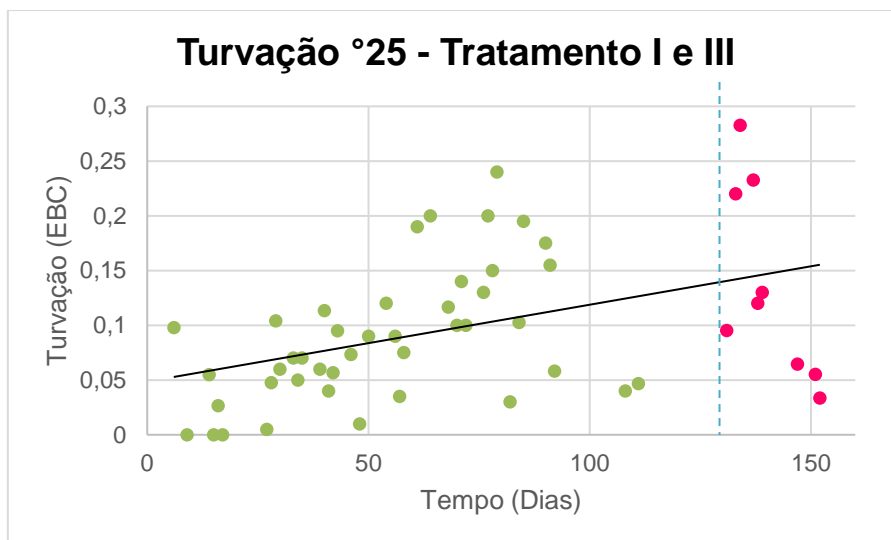
Após a análise ANOVA, retirou-se que existem diferenças significativas entre os tratamentos I e II; II e V; III e V e IV e V, de forma muito semelhante aos resultados obtidos na medição de Turvação a  $^{\circ}90$ . Nas restantes comparações efetuadas, como  $p > 0,05$  e  $F < F_{\text{crítico}}$ ; não existem diferenças significativas.



**Figura 4.39** – Comparação da Turvação  $^{\circ}25$  entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja de Exportação)

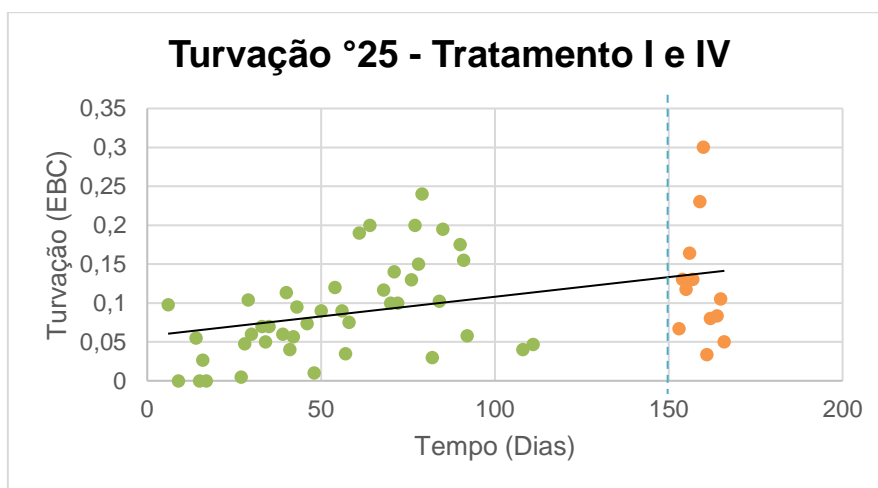
Relativamente aos Tratamentos I e II (**Figura 4.39**), existem diferenças significativas. Apesar de se ter começado a utilizar BrewsClarex no Tratamento II, houve um aumento da Turvação

°25 nos Tanques de Cerveja Filtrada, o que indica que a papaínase (em trasfega à guarda) seria mais eficaz em termos de diminuição da turvação.



**Figura 4.40** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação)

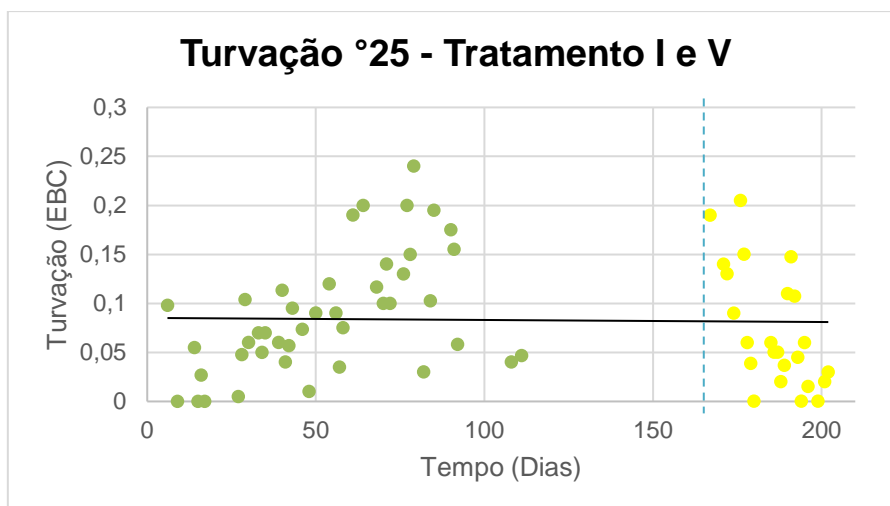
Entre os Tratamentos I e III (**Figura 4.40**), a análise ANOVA não revelou a existência de diferenças significativas. Apesar disto, verifica-se através da linha tendência que a turvação °25 tem tendência a aumentar. Entre os Tratamentos I e III, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento III), bem como foi retirada a adição de papaínase, no Tratamento III. O facto de não existirem diferenças mas ainda assim a turvação ter tendência a aumentar poderá estar relacionado com dois motivos: 1) o BrewsClarex não ser tão eficaz quanto a papaínase (em trasfega à guarda); 2) a papaínase que é adicionada na cerveja em ser indispensável para a diminuição da turvação.



**Figura 4.41** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

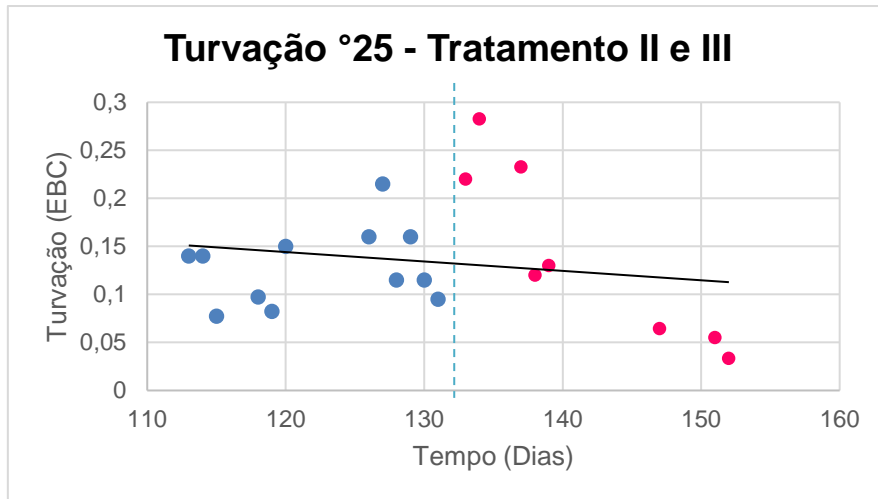
Relativamente aos Tratamentos I e IV (**Figura 4.41**), verificou-se através da linha de tendência que a turvação tende a aumentar, no Tratamento IV, embora as diferenças não tenham significado estatístico. Neste tratamento, apesar de já se utilizar BrewsClarex em mostos,

retirou-se o manucol e a papaínase na cerveja em filtro, o que demonstrou ter influência negativa a nível da Turvação °25, nos TCF's (Cerveja de Exportação). As enzimas proteolíticas, conhecidas como papaínas, na indústria de bebidas, participam na clarificação das cervejas e evitam a turvação deste produto durante o armazenamento prolongado, através da hidrólise de proteínas (Mahecha et al, 2011) e o manucol, tal como já referido, auxilia na estabilização da espuma. A sua não aplicação pode explicar esta tendência para o aumento da turvação.



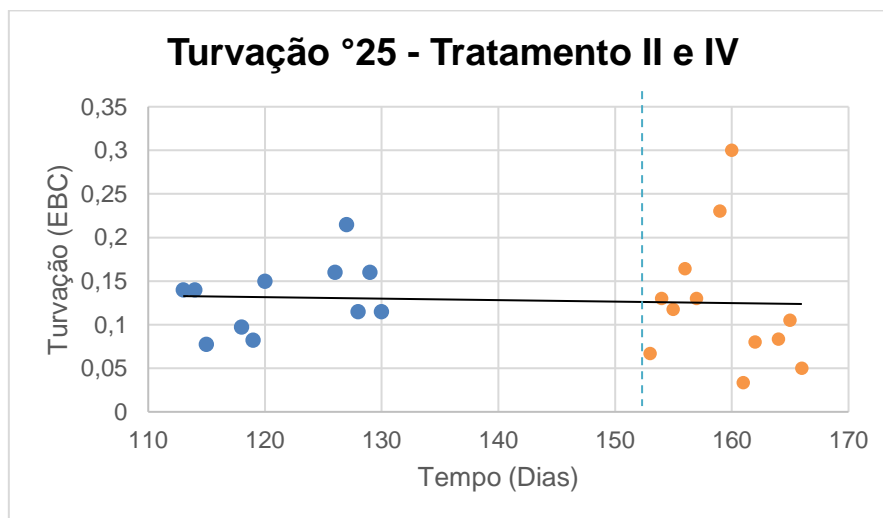
**Figura 4.42** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos I e V (**Figura 4.42**), a análise ANOVA não revelou a existência de diferenças significativas entre os valores das variâncias da variável em estudo. Através da observação da linha de tendência, é possível verificar que a Turvação °25 em TCF's (Cerveja de Exportação) praticamente se mantém. Entre os Tratamentos I e V, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento V). No caso da cerveja de exportação, no Tratamento I eram empregues papaínase, sílica-gel, manucol e PVPP, ao passo que no Tratamento V foi retirada a adição de manucol. Com isto, conclui-se que a substituição de papaínase por BrewClarex não terá contribuído para diminuir a turvação °25 de forma significativa, ao contrário do observado na turvação °90.



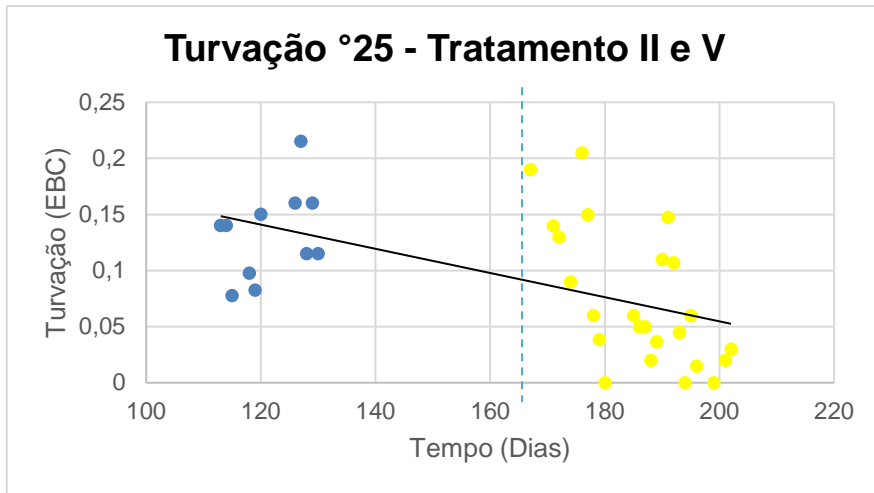
**Figura 4.43** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação)

Os Tratamentos II e III (**Figura 4.43**), diferem no facto de ter sido retirada a papaínase no Tratamento III, em cerveja de exportação. Apesar da análise ANOVA entre estes dois tratamentos não ter revelado a existência de diferenças significativas, é possível verificar que a turvação °25 tende a diminuir.



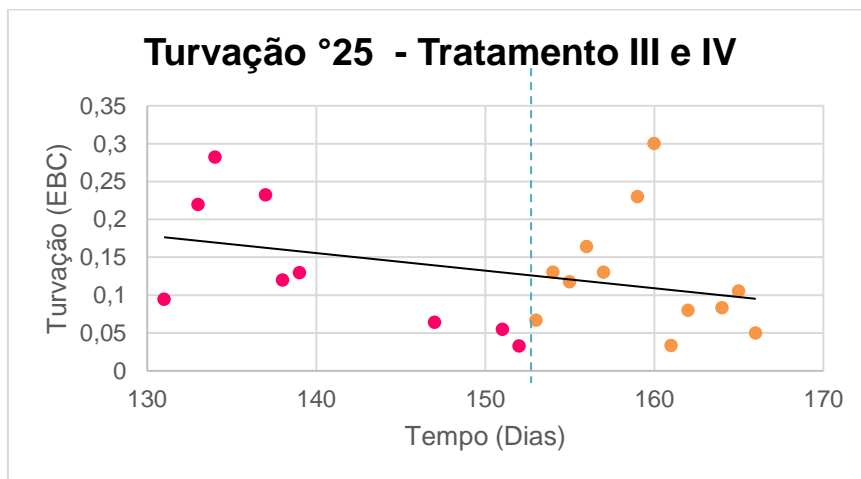
**Figura 4.44** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos II e IV (**Figura 4.44**), na cerveja de exportação eram empregues sílica-gel, manucol, papaínase e PVPP (Tratamento II) e passou apenas a utilizar-se sílica-gel e PVPP (Tratamento IV). Esta comparação não revelou a existência de diferenças significativas e através da observação da linha de tendência verifica-se que a turvação °25 praticamente se mantém.



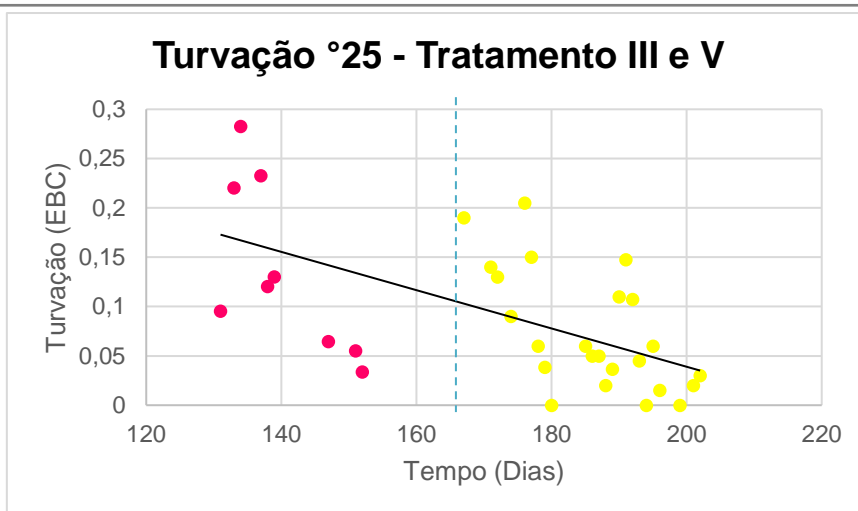
**Figura 4.45** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Entre os Tratamentos II e V (**Figura 4.45**), verificou-se a existência de diferenças significativas. Através da observação da linha de tendência, verifica-se que ocorreu a diminuição dos valores da variável em estudo, sendo que a diferença entre estes tratamentos reside-se no facto de se ter retirado a adição de manucol e se ter adicionado papaínase no Tratamento V, em cerveja de exportação. Esta informação que se pode retirar da comparação dos tratamentos II com os tratamentos III e V, indicam que o Tratamento II é o menos eficaz.



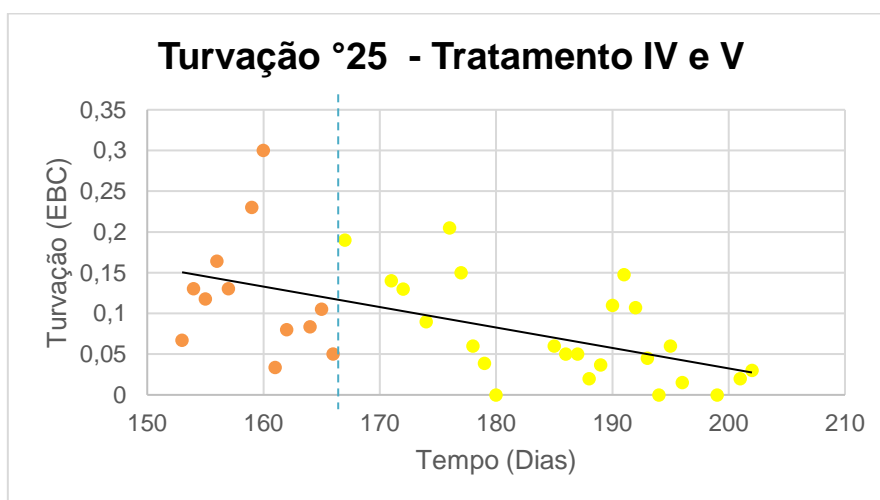
**Figura 4.46** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

Entre os Tratamentos III e IV (**Figura 4.46**), apesar de não se terem verificado diferenças significativas, a turvação °25 tende a diminuir. No Tratamento IV deixou de se utilizar manucol e passou apenas a utilizar-se sílica-gel e PVPP.



**Figura 4.47** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Entre os Tratamentos III e V (**Figura 4.47**), verificou-se a diminuição dos valores da variável em estudo, uma vez que no Tratamento V se voltou a adicionar papaínase e se retirou o manucol, contrariamente ao Tratamento III, onde somente era empregue sílica-gel, manucol e PVPP. Esta comparação revelou: 1) a existência de diferenças significativas; 2) que a papaínase é mais eficaz que o manucol em termos de diminuição da turvação °25 (Cerveja de Exportação) e, por sua vez, 3) que o Tratamento V é mais eficaz que o Tratamento III. O mesmo tinha sido observado nos resultados da Turvação °90.



**Figura 4.48** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Por fim, entre os Tratamentos IV e V (**Figura 4.48**), verificou-se a existência de diferenças significativas e a diminuição dos valores da variável em estudo, uma vez que no Tratamento V se voltou a adicionar papaínase, contrariamente ao Tratamento IV. Esta informação leva a crer

que a adição de papaínase é importante para a diminuição da Turvação °25 em TCF's (Cerveja de Exportação), sendo o Tratamento V o mais indicado.

### 4.3 PRODUTO ACABADO

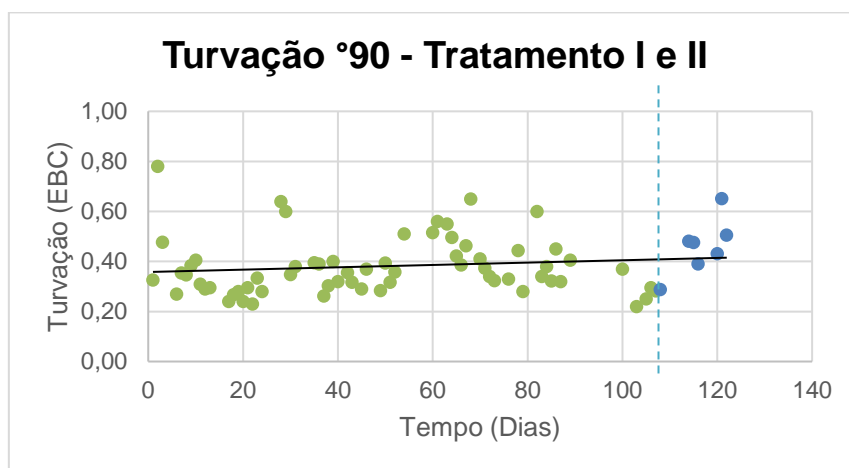
À semelhança dos Tanques de Cerveja Filtrada, as análises efetuadas ao Produto Acabado são a Turvação °25 e °90, quer em Cerveja Nacional, quer em Cerveja de Exportação (v. **Tabela 3.2**).

#### 4.3.1 CERVEJA NACIONAL

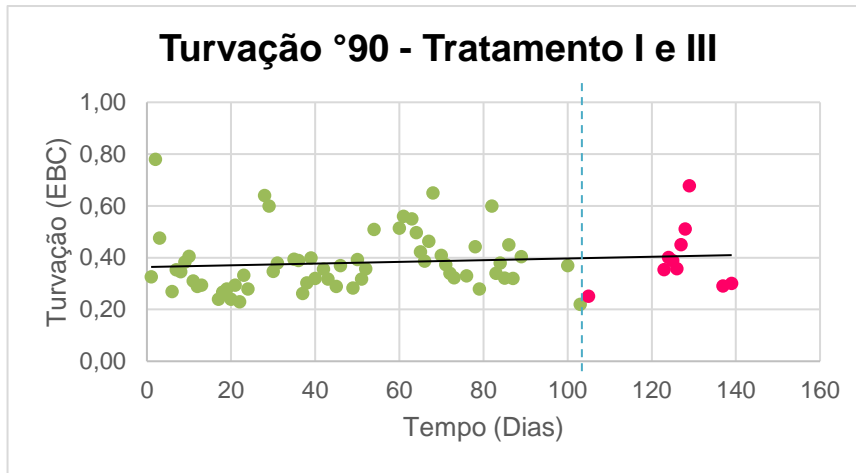
Relativamente ao Produto Acabado, destinado a Cerveja Nacional, os dados de turvação °90 obtidos relativamente a cada tratamento encontram-se nas **Figuras 4.49 – 4.58**.

A Análise ANOVA realizada permitiu verificar que não existem diferenças significativas entre as variâncias dos valores da variável em estudo: Turvação °90 em Produto Acabado, para a Cerveja Nacional, uma vez que  $p(0,24) > 0,05$  e  $F(1,40) < F_{\text{crítico}}(2,46)$ . Ou seja, as alterações efetuadas com a substituição da papaína pelo BrewClarex não resultaram na redução significativa da turvação da cerveja (mas também não aumentaram a turvação da cerveja).

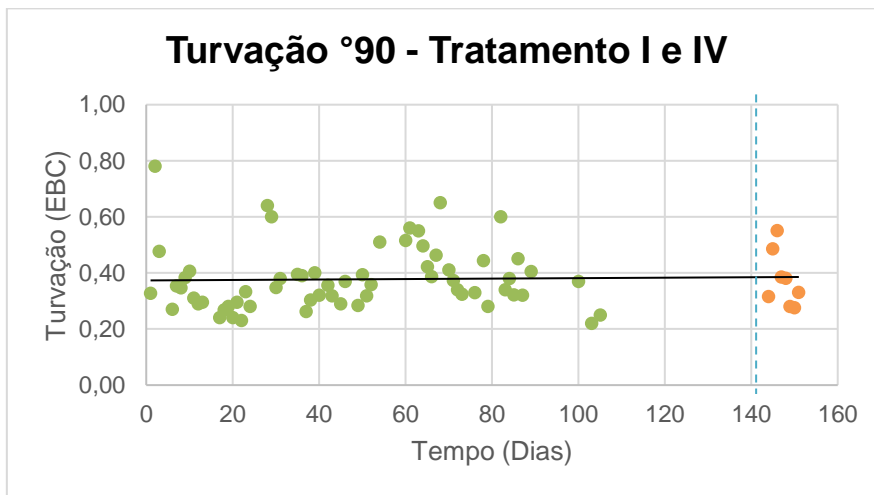
Apesar de não existirem diferenças significativas entre Tratamentos, verifica-se através das linhas de tendência dos gráficos acima que existe uma tendência para a Turvação °90 diminuir nos Tratamentos I e V, III e V, II e IV, II e V, III e IV e, por fim, IV e V.



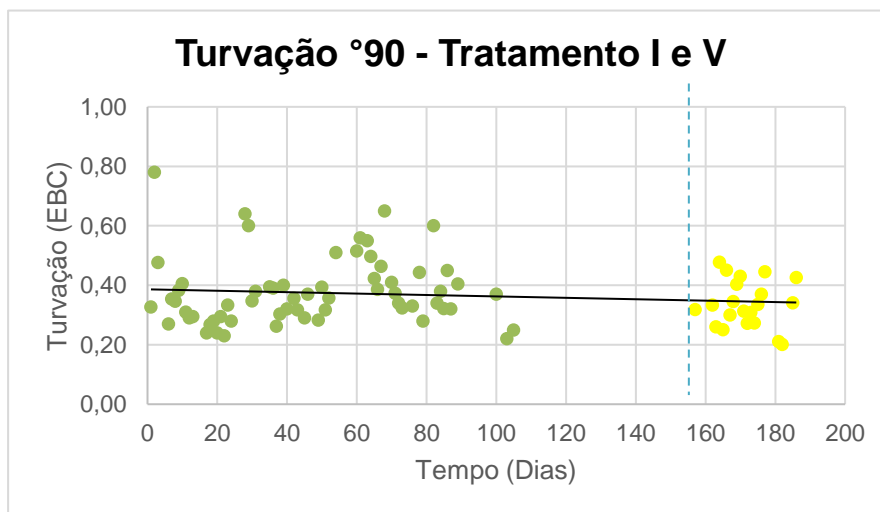
**Figura 4.49** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja Nacional)



**Figura 4.50** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja Nacional)



**Figura 4.51** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)



**Figura 4.52** - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

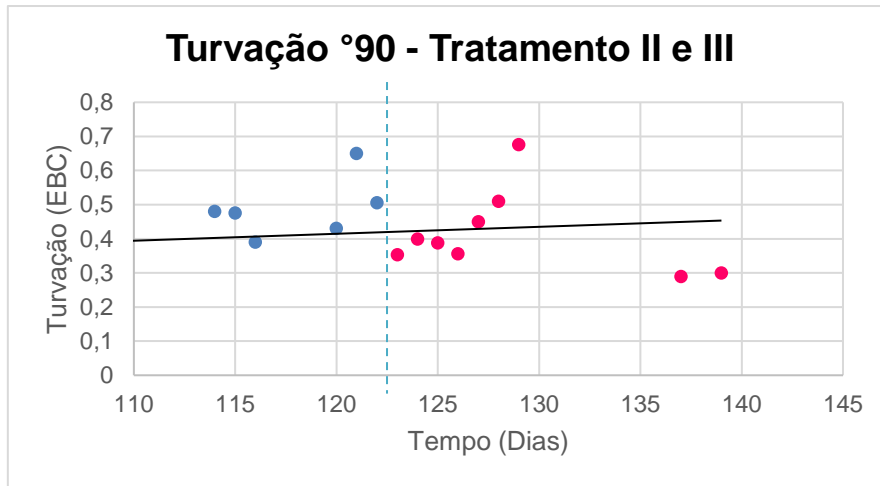


Figura 4.53 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja Nacional)

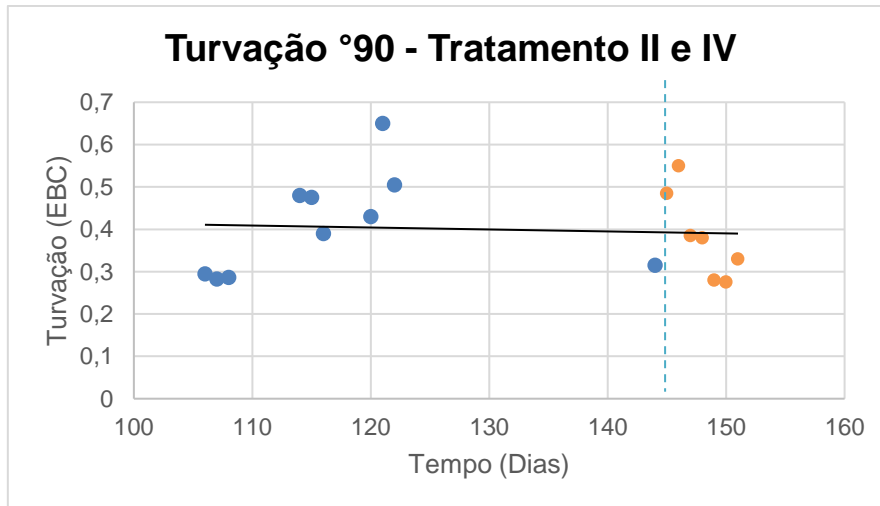


Figura 4.54 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

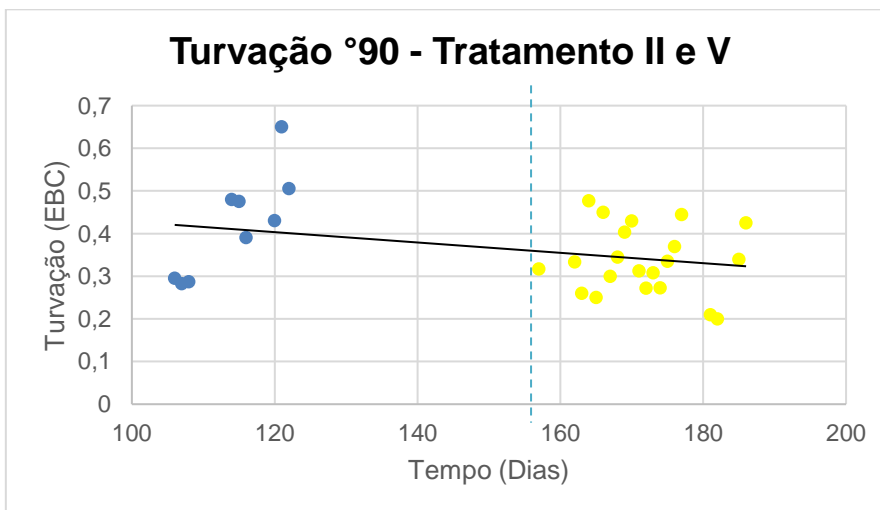


Figura 4.55 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

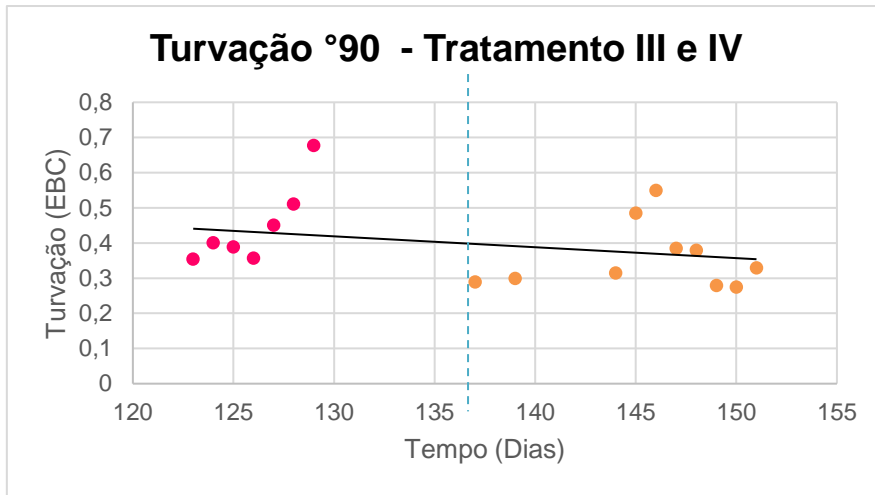


Figura 4.56 – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

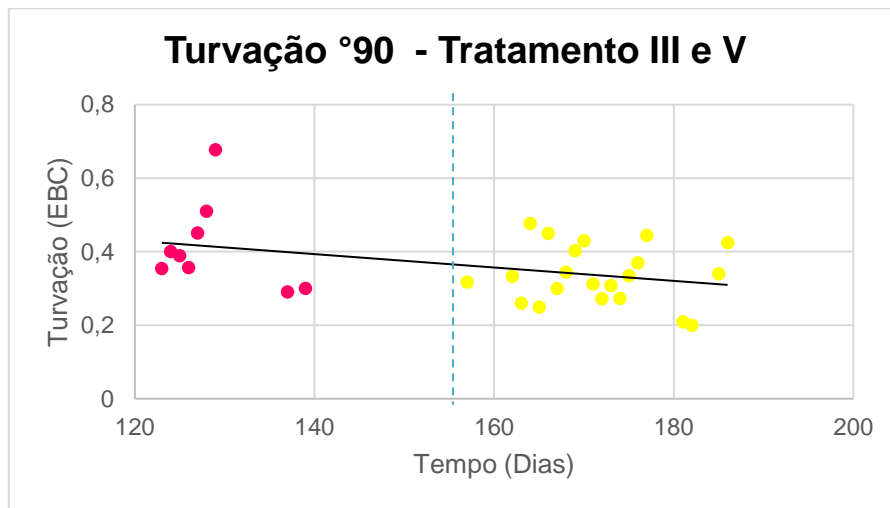


Figura 4.57 - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

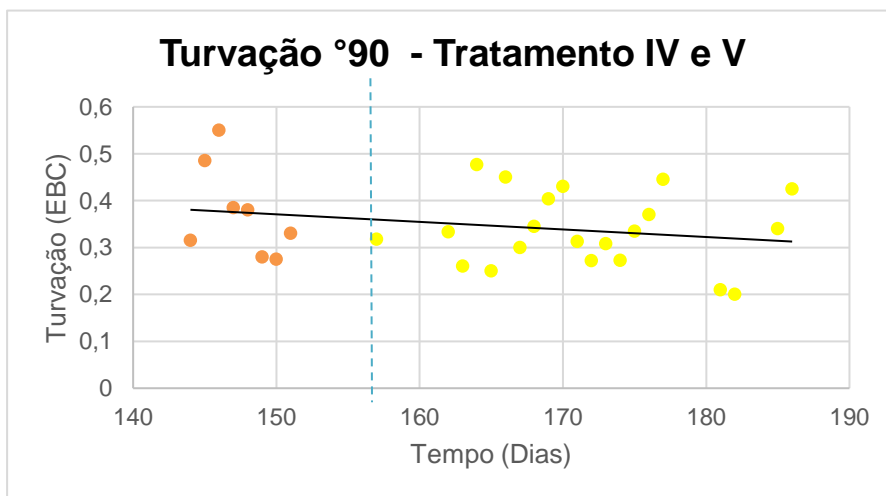
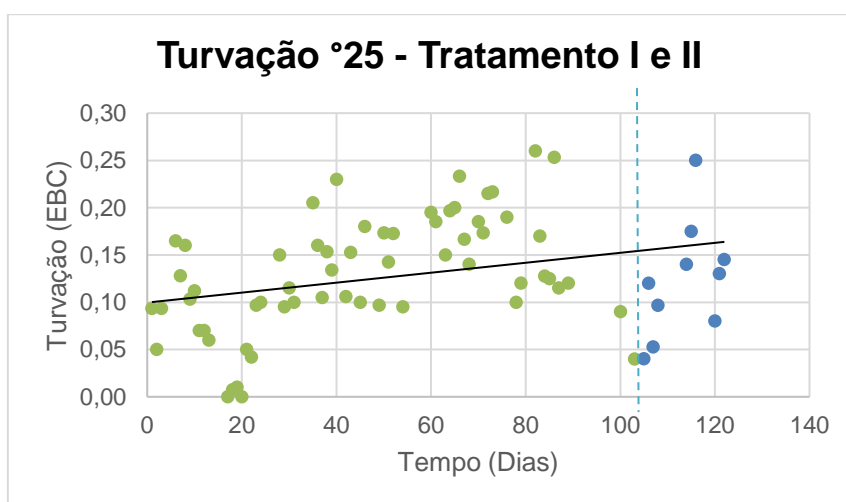


Figura 4.58 - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

O facto de não existirem diferenças entre a Turvação °90 entre os Tratamentos, na Cerveja Nacional, poderá estar relacionado com o facto de a turvação °90 indicar a presença de pequenos complexos coloidais de proteínas e polifenóis (Anger et al., 2009), bem como o facto de a turvação ser influenciada por outras substâncias sobre as quais os estabilizantes poderão não ter efeito, tais como minerais (ferro e cobre) (Gresser, 2009), hidratos de carbono e partículas orgânicas (Steiner et al., 2010).

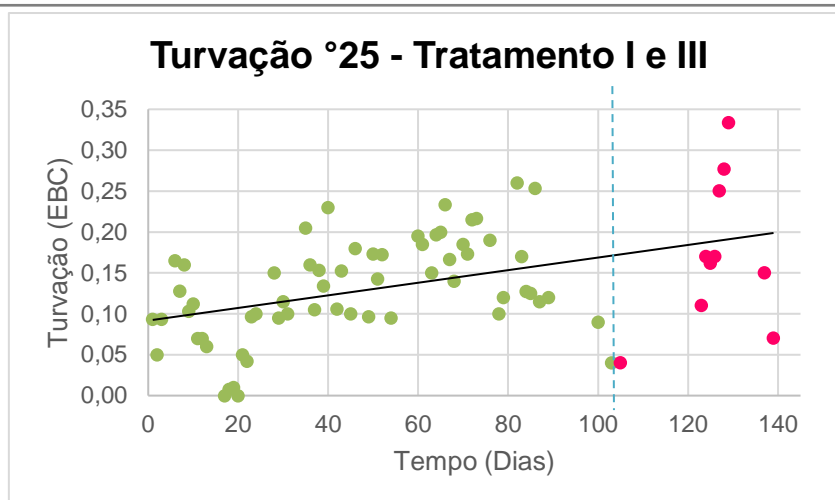
Para além da Turvação °90 em Produto Acabado, foi também avaliada a Turvação °25. Os gráficos correspondentes a esta variável encontram-se nas **Figuras 4.59 – 4.68**.

Da Análise ANOVA realizada aos valores da Turvação °25 entre os vários tratamentos aplicados ao Produto Acabado (Cerveja Nacional), verifica-se que existem diferenças significativas entre os Tratamentos I e III e III e V, tal como se tinha observado nos resultados do tanque de filtração.



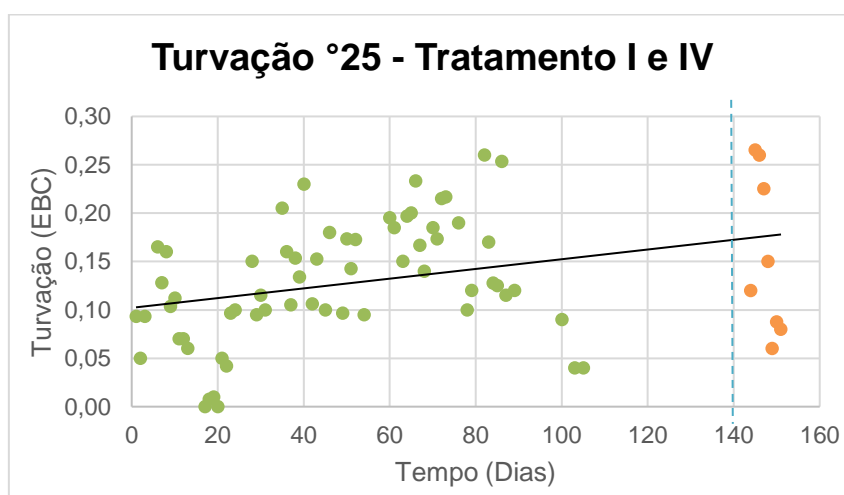
**Figura 4.59** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja Nacional)

Relativamente aos Tratamentos I e II (**Figura 4.59**), não se verificou a existência de diferenças significativas. Para além disto, a Turvação °25 tem a aumentar no Tratamento II, sendo que a única alteração que existe entre tratamentos é a substituição de papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), por BrewsClarex (em mostos). O facto da Turvação aumentar no Tratamento II indica que a adição de BrewsClarex em mostos não é eficaz a nível de diminuição da turvação °25 em PA (Cerveja Nacional).



**Figura 4.60** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja Nacional)

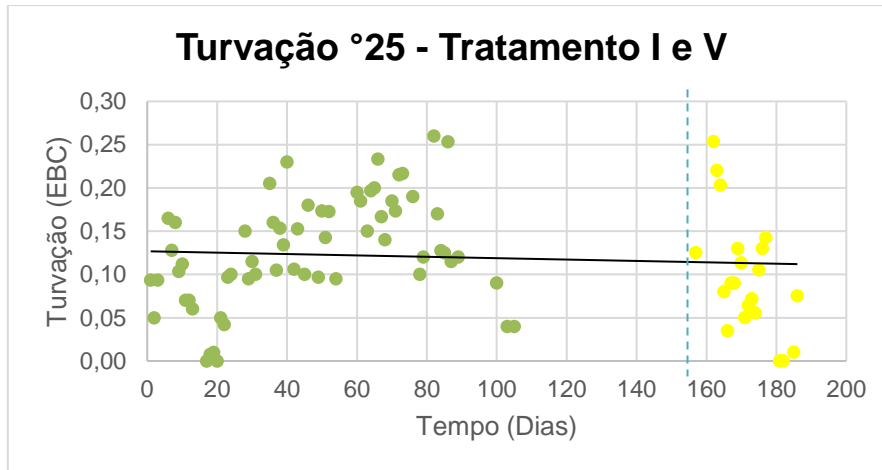
Relativamente aos Tratamentos I e III (**Figura 4.60**) verifica-se que a Turvação °25 tende a aumentar, de forma significativa, pois apesar de ter sido substituída a papaínase (em trasfega à guarda) por BrewsClarex no Tratamento III, em filtro foi retirada a papaínase, tendo sido adicionados apenas sílica-gel e manucol, que não se observou o efeito pretendido a nível da diminuição da turvação, uma vez que esta aumentou. Isto pode dever-se ao facto de o BrewsClarex em filtro não ser tão eficaz quanto a papaínase ou ao facto de a papaínase em filtro ser importante de modo a diminuir a turvação.



**Figura 4.61** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

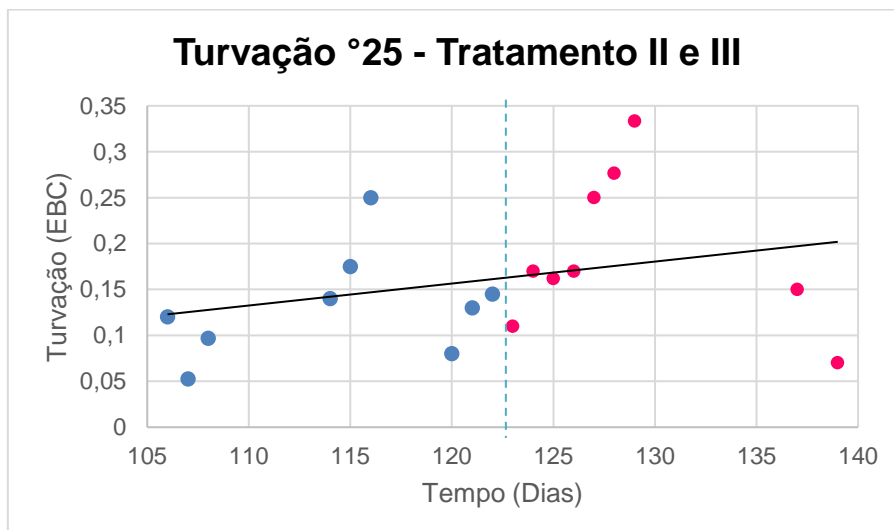
No caso dos Tratamentos I e IV (**Figura 4.61**), apesar de não se terem verificado diferenças significativas, a turvação °25 tende a aumentar no Tratamento IV. Entre os Tratamentos I e IV, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento IV). Para além disto, em cerveja nacional, no Tratamento I eram

empregues sílica-gel, papaínase e manucol, sendo que no Tratamento IV passou apenas a aplicar-se manucol. O facto de no tratamento IV se adicionar apenas manucol poderá não ser suficiente para a diminuição da turvação, sendo prova disso o facto desta aumentar. Outra justificação, deve-se ao facto de no Tratamento IV existirem poucos dados acerca da turvação °25 em PA (Cerveja Nacional).



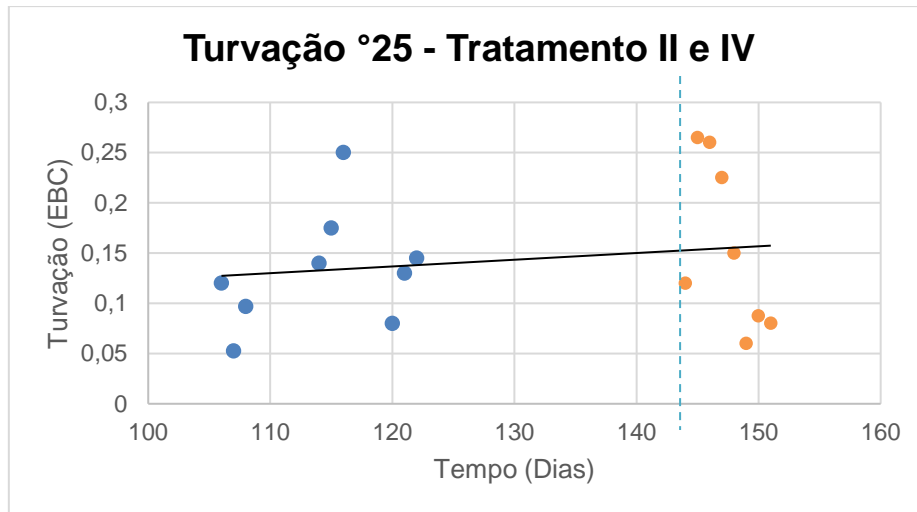
**Figura 4.62** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

À semelhança dos Tratamento I e IV, também os Tratamentos I e V (**Figura 4.62**) não revelaram a existência de diferenças significativas. Neste caso, a turvação praticamente se mantém, com tendência a diminuir. Esta informação revela mais uma vez que a adição de papaínase em trasfega à guarda será mais eficaz do que o BrewsClarex em mostos.



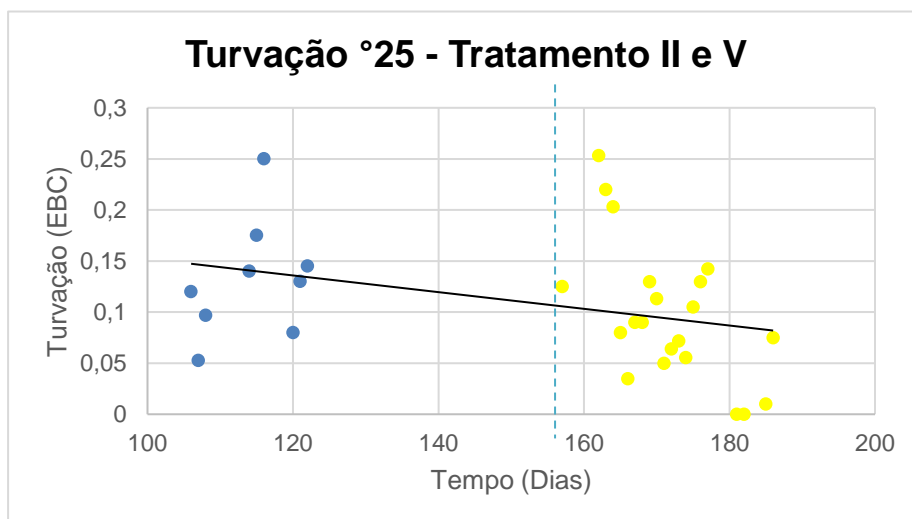
**Figura 4.63** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja Nacional)

Relativamente aos Tratamentos II e III (**Figura 4.63**), não existem diferenças significativas entre os valores das variâncias da variável em estudo. No entanto, através da observação da linha de tendência verifica-se que a turvação °25 tem tendência a aumentar. A diferença entre o Tratamento II e III reside no facto de se ter retirado a adição de papaínase no Tratamento III e se ter passado a adicionar apenas sílica-gel e manucol em filtro. Com isto, conclui-se que a adição de papaínase em filtro é importante para diminuir a turvação.



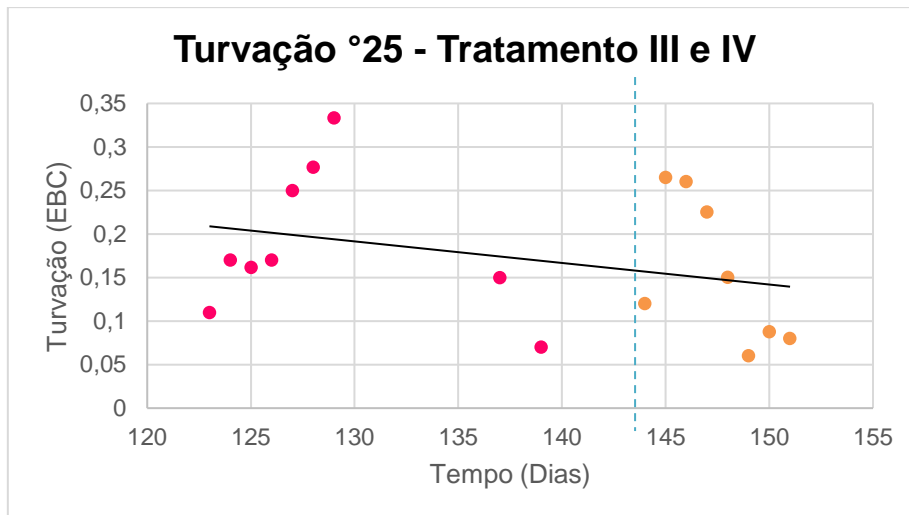
**Figura 4.64** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

Nos Tratamentos II e IV (**Figura 4.64**), a tendência da turvação °25 é a aumentar, apesar de não existirem diferenças significativas. No Tratamento IV apenas se utiliza manucol em filtro, ao passo que no Tratamento II eram empregues sílica-gel, manucol e papaínase.



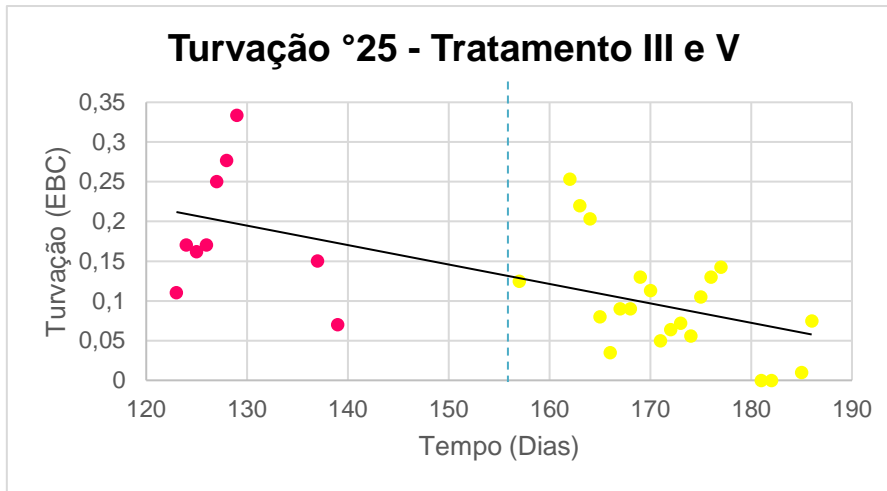
**Figura 4.65** - Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

Relativamente aos Tratamentos II e V (**Figura 4.65**), a análise ANOVA não revelou a existência de diferenças significativas entre os valores das variâncias da variável em estudo – Turvação °25 em PA (Cerveja Nacional). Apesar disto, através da observação da linha de tendência, verifica-se que a turvação °25 tem tendência a diminuir. No tratamento V manteve-se a adição de BrewsClarex e manucol mas retirou-se a sílica-gel. Esta informação reforça a ideia de que a nível da cerveja nacional, a sílica-gel não desempenha um papel positivo. Segundo Carvalho et al (2007), embora a sílica-gel apresente um custo reduzido, a sua capacidade de remoção do resíduo de proteínas responsáveis por causar turvação é limitada.



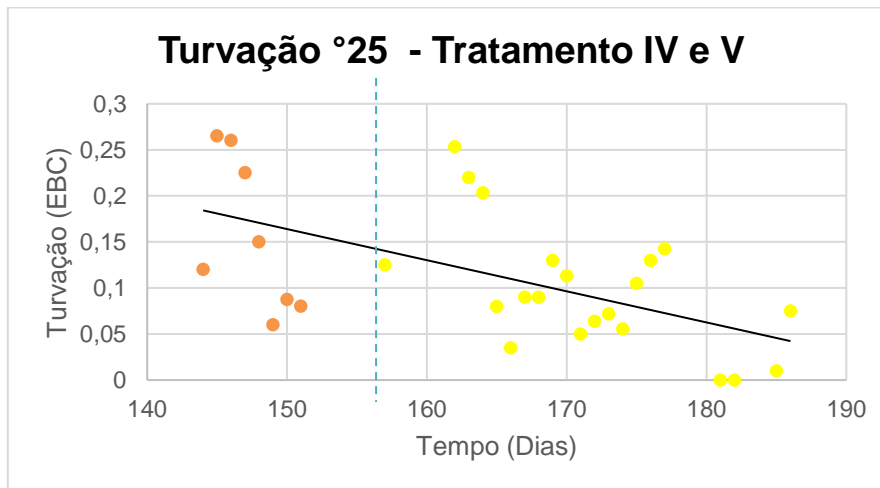
**Figura 4.66** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja Nacional)

Em relação aos Tratamentos III e IV (**Figura 4.66**), não se verificou a existência de diferenças significativas. No entanto, a turvação °25 tem tendência a diminuir. A diferença entre tratamentos reside unicamente da retirada de adição de sílica-gel no Tratamento IV, que, mais uma vez, mostra que este estabilizante não tem efeitos positivos em termos de diminuição da turvação, em Cerveja Nacional.



**Figura 4.67** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

Entre os Tratamentos III e V (**Figura 4.67**), verificou-se a existência de diferenças significativas. Através da observação da linha de tendência é possível verificar que a turvação °25 tem tendência a diminuir. No Tratamento V manteve-se a adição de BrewsClarex e manucol mas retirou-se a sílica-gel. Esta informação reforça novamente a ideia de que a nível da cerveja nacional, a sílica-gel não desempenha um papel positivo, uma vez que a turvação diminuiu quando se retirou este estabilizante no Tratamento V.



**Figura 4.68** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja Nacional)

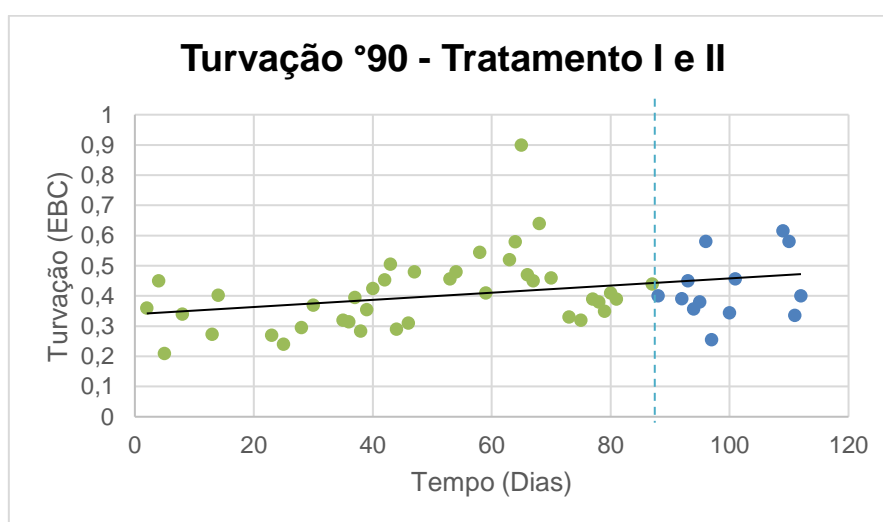
Por fim, os Tratamentos IV e V (**Figura 4.68**), não revelaram a existência de diferenças significativas, o que seria expectável, uma vez que ambos os tratamentos são iguais, a nível de cerveja nacional.

### 4.3.2 CERVEJA DE EXPORTAÇÃO

Os dados da Turvação  $^{\circ}90$  correspondentes ao Produto Acabado destinado a exportação encontram-se nas **Figuras 4.69 – 4.78**.

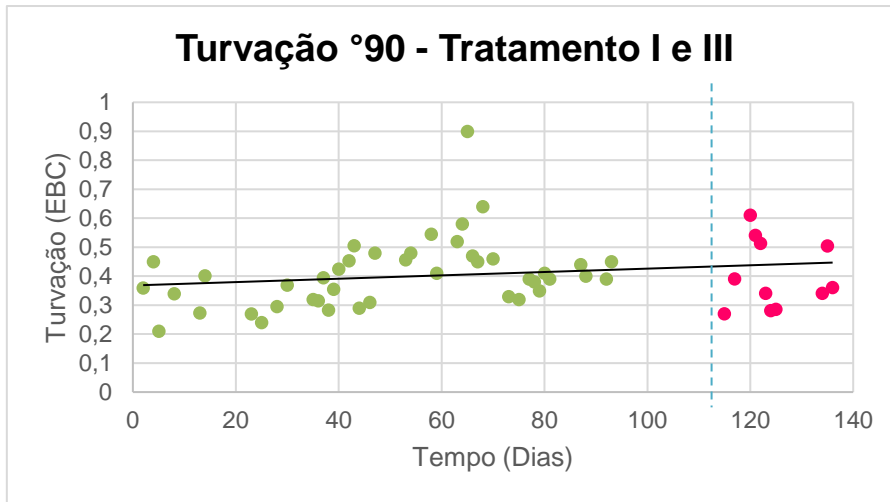
Foi efetuada uma Análise ANOVA à variável Turvação  $^{\circ}90$  em Produto Acabado (Cerveja de Exportação), em que se verificou que  $p < 0,05$  e  $F > F_{\text{crítico}}$ , ou seja, existem diferenças significativas entre os valores da variância da variável em estudo. Posto isto, procedeu-se a análises ANOVA a todos os tratamentos, de modo a perceber entre quais existia diferenças significativas.

Após a análise ANOVA, verificou-se que existem diferenças significativas entre os tratamentos I e V; II e IV; II e V e III e V. Em todas as comparações, a linha de tendência mostra uma diminuição da Turvação  $^{\circ}90$ . Nas restantes comparações efetuadas, como  $p > 0,05$  e  $F < F_{\text{crítico}}$ ; não existem diferenças significativas.



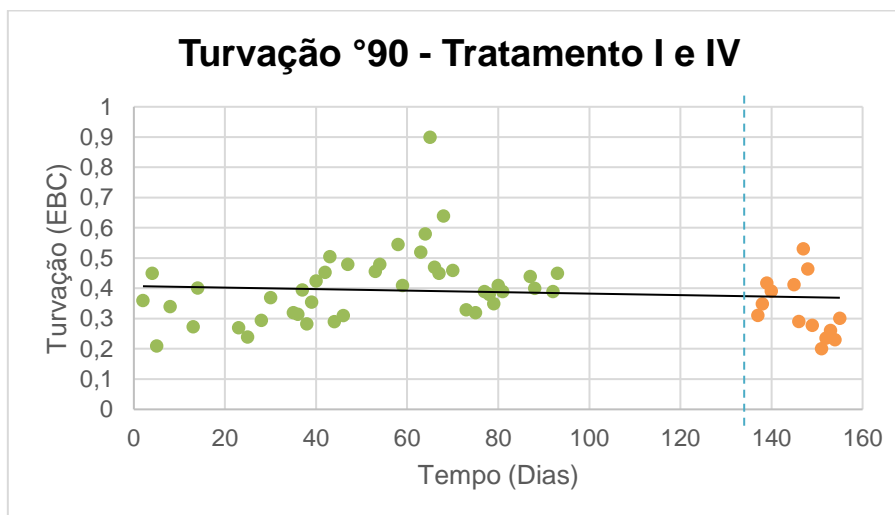
**Figura 4.69** – Comparação da Turvação  $^{\circ}90$  entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos I e II (**Figura 4.69**), para além de não existirem diferenças significativas, a turvação  $^{\circ}90$  tem tendência a aumentar, em PA (cerveja de exportação). Entre os Tratamentos I e II, a única alteração que existe é a substituição de papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I). O facto da turvação ter tendência a aumentar mostra que a adição de BrewsClarex não será tão eficaz quanto a papaínase em trasfega à guarda.



**Figura 4.70** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação)

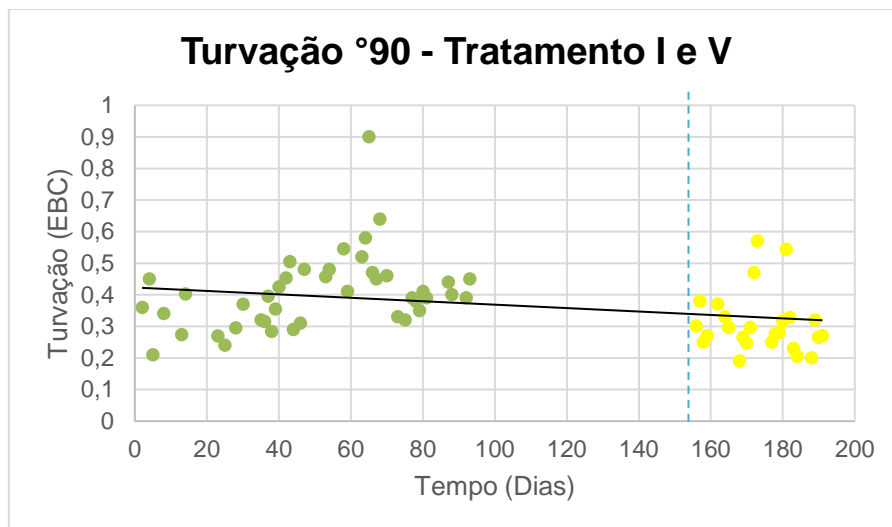
Entre os Tratamentos I e III (**Figura 4.70**), não existem diferenças significativas entre os valores das variâncias da variável em estudo. Através da linha de tendência, é possível verificar que a linha de tendência sobe ligeiramente. Entre estes tratamentos, a diferença reside no facto de se ter passado a utilizar BrewxClarex (em mostos), no Tratamento III, em vez de papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), bem como no facto de no Tratamento III se ter retirado a papaínase em filtro.



**Figura 4.71** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos I e IV (**Figura 4.71**), não se verificaram diferenças significativas. Através da linha de tendência é possível verificar uma ligeira descida da turvação °90. Relativamente aos Tratamentos em questão, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento IV); no caso da

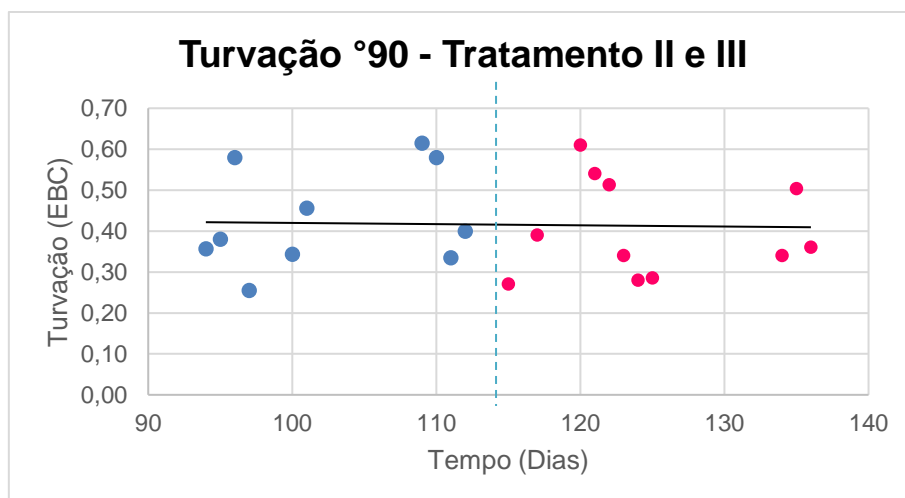
cerveja de exportação, no Tratamento I eram empregues sílica-gel, papaínase, manucol e PVPP, tendo sido retirados a papaínase e o manucol no Tratamento IV.



**Figura 4.72** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

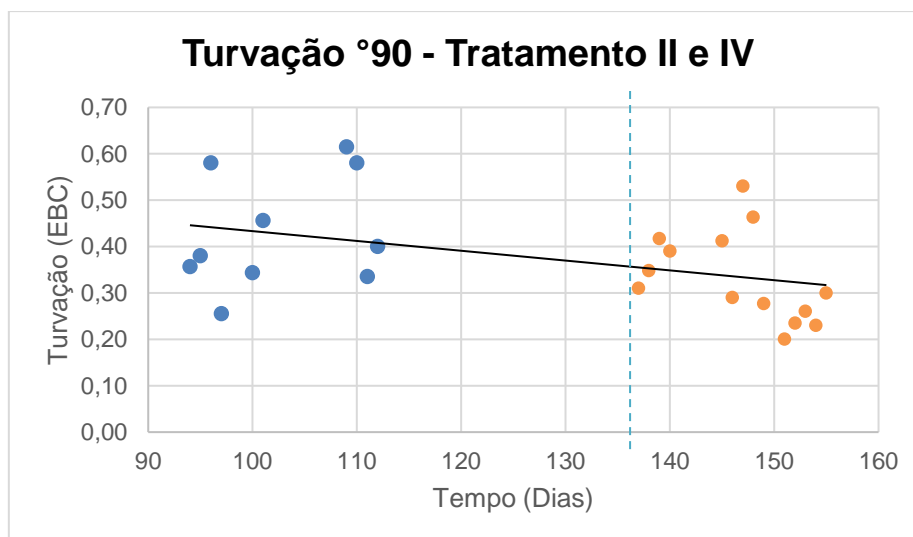
Nos Tratamentos I e V (**Figura 4.72**), através da análise ANOVA verificou-se a existência de diferenças significativas. Entre os Tratamentos I e V, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento V); no caso da cerveja de exportação, no Tratamento I eram empregues papaínase, sílica-gel, manucol e PVPP, ao passo que no Tratamento V foi retirada a adição de manucol.

Relativamente às **Figuras 4.71 e 4.72**, é possível verificar que em ambas se verificou a existência de diminuição da Turvação °90 em Cerveja de Exportação. Apesar de que na **Figura 4.71** a diminuição da turvação é bastante ténue, o que poderá querer dizer que o Tratamento V será mais eficaz que o IV, pela adição da papaínase em filtro.



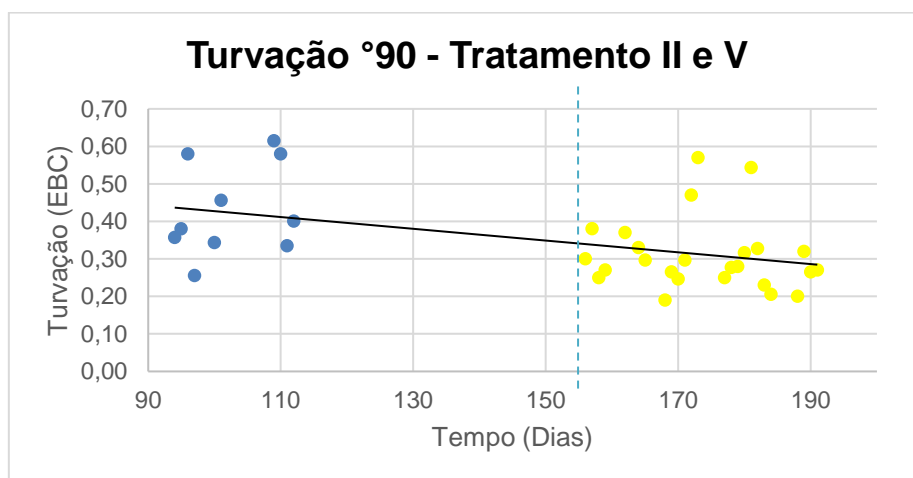
**Figura 4.73** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos II e III (**Figura 4.73**), é possível verificar através da linha de tendência que a turvação °90 em PA (Cerveja de Exportação), praticamente se mantém. A diferença entre estes tratamentos é apenas a retirada de papaínase no Tratamento III, em cerveja de exportação, o que não provocou efeitos a nível da turvação. O contrário foi verificado na mesma análise entre tratamento II e III no tanque de filtração. Nessa análise, a adição de papaínase era importante para a redução da turvação.



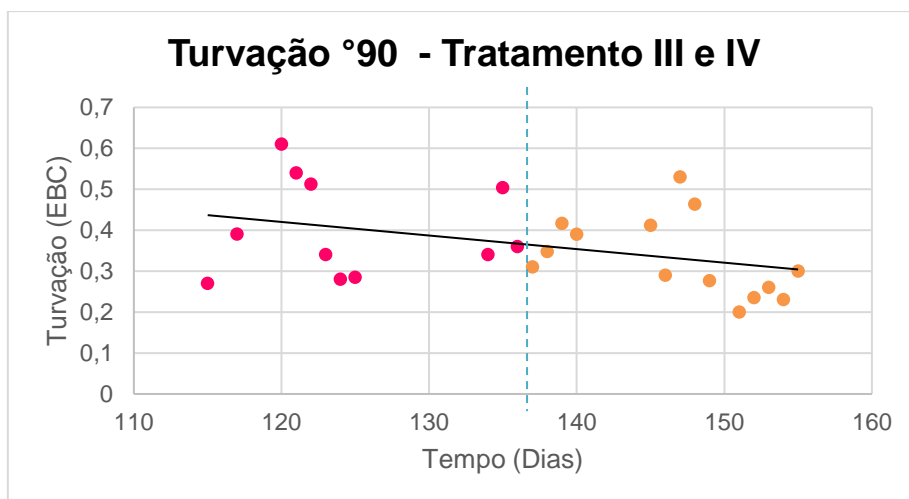
**Figura 4.74** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos II e IV (**Figura 4.74**), existem diferenças significativas. Entre os Tratamentos II e IV, no caso da cerveja de exportação, no Tratamento II eram empregues sílica-gel, papaínase, manucol e PVPP, tendo sido retirados a papaínase e o manucol no Tratamento IV, o que revelou efeitos positivos a nível da diminuição da turvação °90 em PA (Cerveja de Exportação).



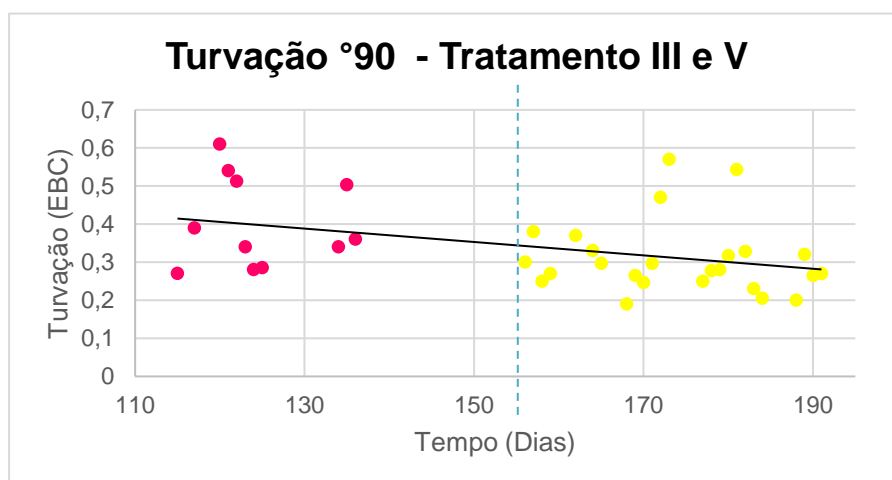
**Figura 4.75** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

A comparação entre os Tratamentos II e V (**Figura 4.75**), revelou a existência de diferenças significativas. Através da observação da linha de tendência, é possível verificar que a turvação °90 em PA (Cerveja de Exportação) tem tendência a diminuir, sendo que a única diferença é a retirada de manucol no Tratamento V, em Cerveja de Exportação. Esta informação corrobora novamente a teoria de que quando se retira o manucol em Cerveja de Exportação, é favorável para a diminuição da turvação.



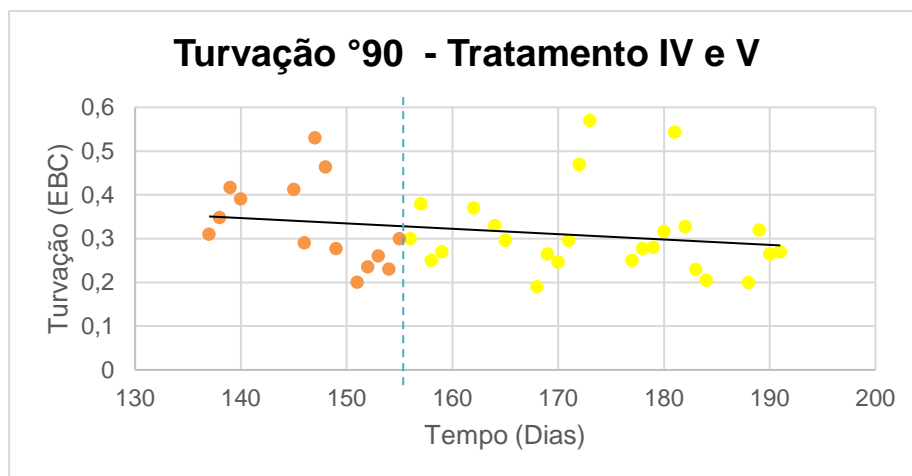
**Figura 4.76** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos III e IV (**Figura 4.76**), não existem diferenças significativas. No entanto, através da observação da linha de tendência, é possível verificar que a turvação °90 em PA (Cerveja de Exportação) tem tendência a diminuir. A única diferença entre tratamentos reside na retirada de adição de manucol no Tratamento IV, passando apenas a adicionar-se sílica-gel e PVPP. Esta informação significa que poderá ser importante a introdução de outro estabilizante, como a papaínase.



**Figura 4.77** - Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos III (Rosa) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Em relação aos Tratamentos III e V (**Figura 4.77**), a análise ANOVA revelou a existência de diferenças significativas entre os valores das variâncias das variáveis em estudo. A diferença entre ambos os tratamentos reside no facto de no Tratamento V se ter substituído o manucol por papaínase, em filtro, na Cerveja de Exportação. Com isto, é possível concluir que a papaínase tem efeitos superiores ao manucol, em termos de diminuição da turvação, como tinha sido exposto anteriormente.



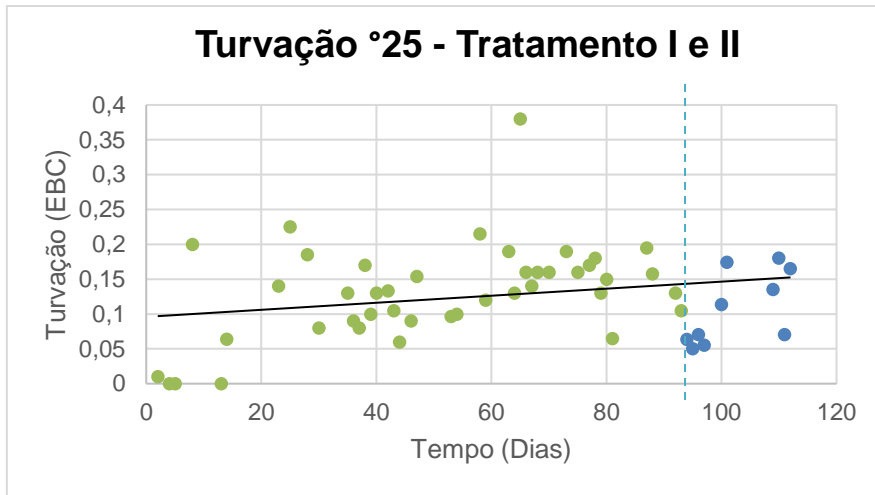
**Figura 4.78** – Comparação da Turvação °90 entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Quer o Tratamento IV, quer o Tratamento V potenciam uma diminuição da Turvação °90 em Cerveja de Exportação (PA), sendo que o Tratamento V será ainda mais eficaz, pois através da observação da linha de tendência da **Figura 4.78**, que compara os Tratamentos IV e V, verifica-se que há uma tendência a diminuir.

Foi também avaliada a Turvação °25 em Produto Acabado, com destino a exportação. Os dados correspondentes a esta variável encontram-se nas **Figuras 4.79 – 4.88**.

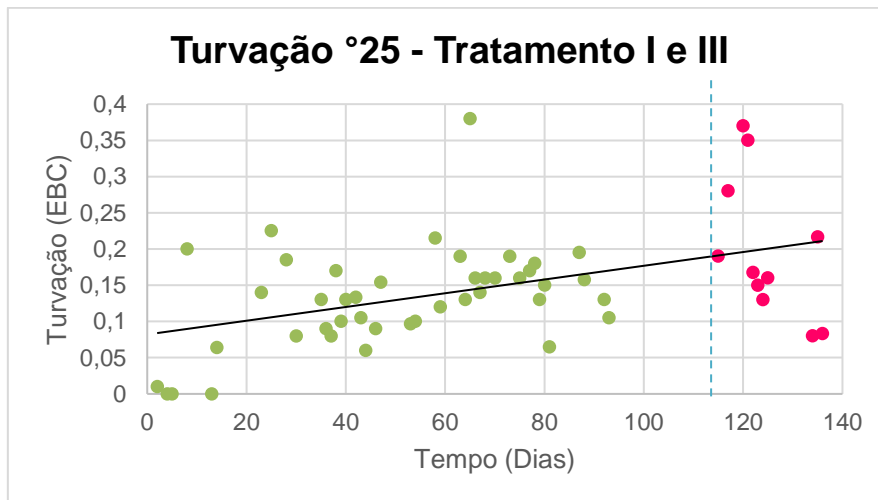
Por fim, foi efetuada uma Análise ANOVA aos dados da Turvação °25 entre os diversos tratamentos, ao Produto Acabado, destinado a exportação. Verificou-se a existência de diferenças significativas entre os Tratamentos I e III; I e V e III e V.

A nível geral, a substituição de papaínase em trasfega à guarda por BrewsClarex em mostos, não revelou eficácia em termos de diminuição da turvação °25 em PA (Cerveja de Exportação), à excepção do Tratamento V, em que existem diferenças significativas e a turvação diminuiu (**Figura 4.82**).



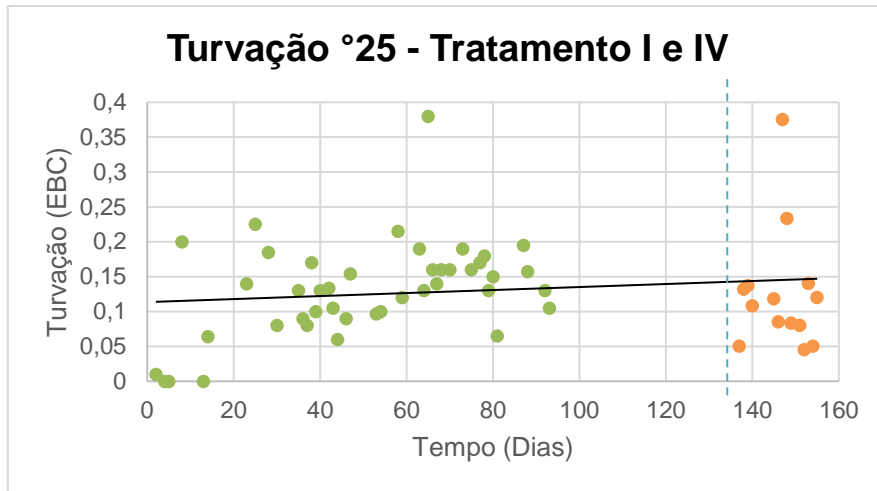
**Figura 4.79** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e II (Azul) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos I e II (**Figura 4.79**), a turvação tem tendência a aumentar. Entre os Tratamentos I e II, a única alteração que existe é a substituição de papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I) pelo BrewsClarex que não mostrou a mesma eficácia.



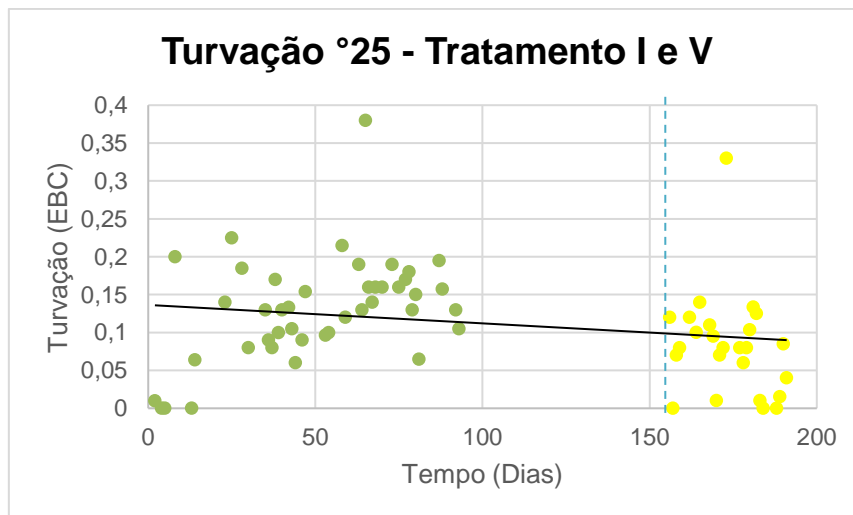
**Figura 4.80** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos I e III (**Figura 4.80**), a análise ANOVA revelou a existência de diferenças significativas entre os valores das variâncias da Turvação °25 em PA (Cerveja de Exportação). Neste caso, a turvação tem tendência a aumentar, o que poderá estar relacionado com: 1) o BrewsClarex em mostos não ser tão eficaz quanto a papaínase em trasfega à guarda; e 2) a retirada de papaínase no Tratamento III, em cerveja de exportação.



**Figura 4.81** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

Em relação aos Tratamentos I e IV (**Figura 4.81**), a análise ANOVA não revelou a existência de diferenças significativas. Apesar disto, através da observação da linha de tendência é possível verificar que a turvação tem tendência a aumentar. No Tratamento IV utiliza-se BrewsClarex (em mostos) e sílica-gel e PVPP, em filtro. O facto da turvação ter tendência a aumentar pode estar relacionado com o facto do BrewsClarex não ser eficaz, bem como se utilizar apenas sílica-gel e PVPP em filtro.

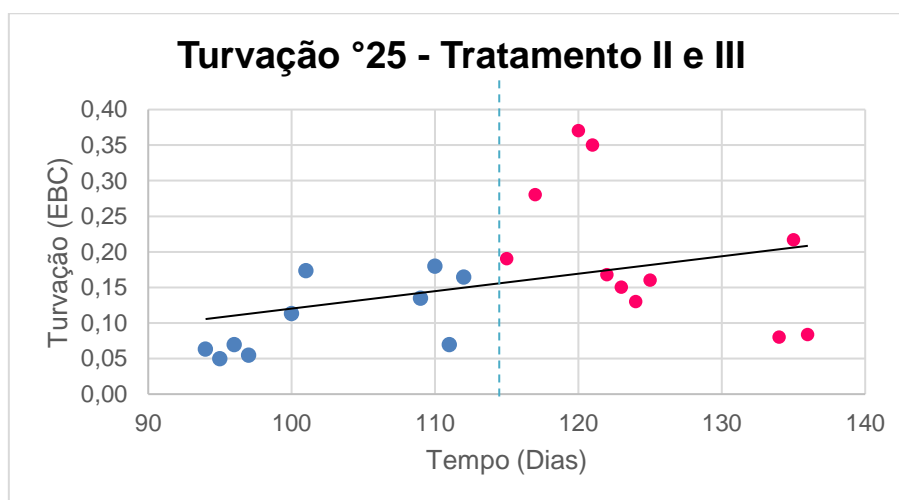


**Figura 4.82** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos I (Verde) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Entre os Tratamentos I e V (**Figura 4.82**), verificou-se a existência de diferenças significativas entre os valores das variâncias da variável em estudo – Turvação °25 em PA (Cerveja de Exportação). Através da observação da linha de tendência é possível verificar que a turvação

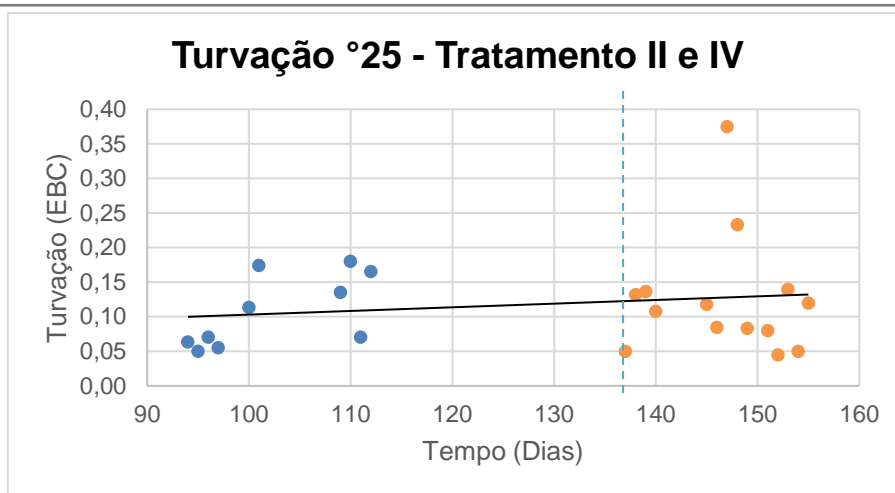
tem tendência a diminuir. Entre os Tratamentos I e V, substituiu-se a papaínase em trasfega à guarda (Tratamento I), pelo BrewsClarex, adicionado em mosto (Tratamento V). No caso da cerveja de exportação, no Tratamento I eram empregues papaínase, sílica-gel, manucol e PVPP, ao passo que no Tratamento V foi retirada a adição de manucol. O tratamento V foi o único que comparativamente ao Tratamento I revelou a existência de diferenças significativas e, simultaneamente, a diminuição da turvação, o que leva a crer que é o mais eficaz em termos de diminuição da Turvação °25 em PA (Cerveja de Exportação).

Carvalho e os seus investigadores (2007) desenvolveram uma solução enzimática capaz de aumentar a estabilidade coloidal da cerveja, através da percepção das reacções químicas envolvidas no processo de turvação da cerveja, durante o armazenamento a frio. Eles sugeriram a utilização da protease prolina-específica da DSM *Beverage Enzymes*, comercializada como BrewsClarex. Apesar de no Tratamento II não se ter verificado diminuição da turvação quando a papaínase em trasfega à guarda foi substituída por BrewsClarex (em mostos), no Tratamento V, onde apenas é adicionada esta enzima e, mais tarde, em filtro, o manucol, a turvação tende a diminuir. Isto pode querer dizer que no Tratamento V esta protease já poderá estar a ter o efeito pretendido, pois o manucol apenas tem efeito sobre a estabilização da espuma.



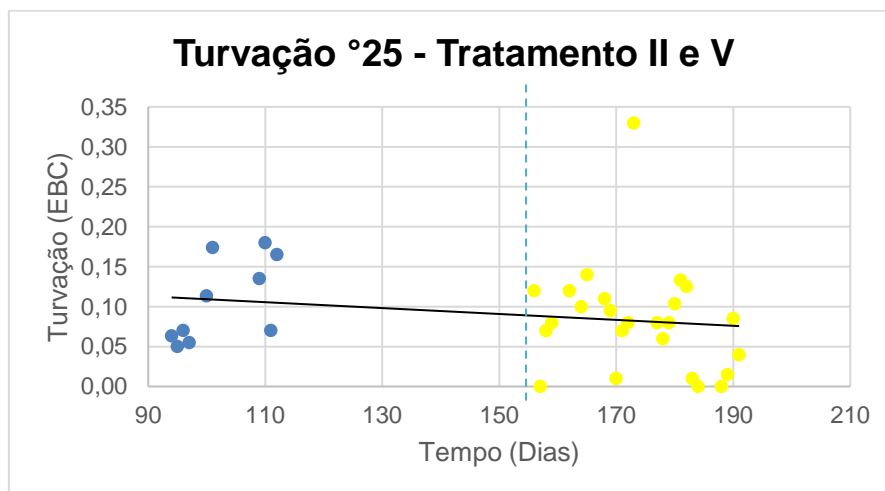
**Figura 4.83** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e III (Rosa) (Cerveja de Exportação)

Entre os Tratamentos II e III (**Figura 4.83**), verificou-se um aumento da turvação °25., mas sem significado estatístico. Isto pode ser explicado pelo facto de no Tratamento III se ter retirado a adição de papaínase, em cerveja de exportação, pois é a única diferença entre ambos os tratamentos. Uma vez mais, esta informação realça a importância da adição de papaínase na indústria de bebidas, utilizada para hidrolisar as proteínas de elevado peso molecular, na clarificação da cerveja, evitando a turvação do produto durante o seu armazenamento e refrigeração prolongada (Aehle, 2007).



**Figura 4.84** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos II (Azul) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

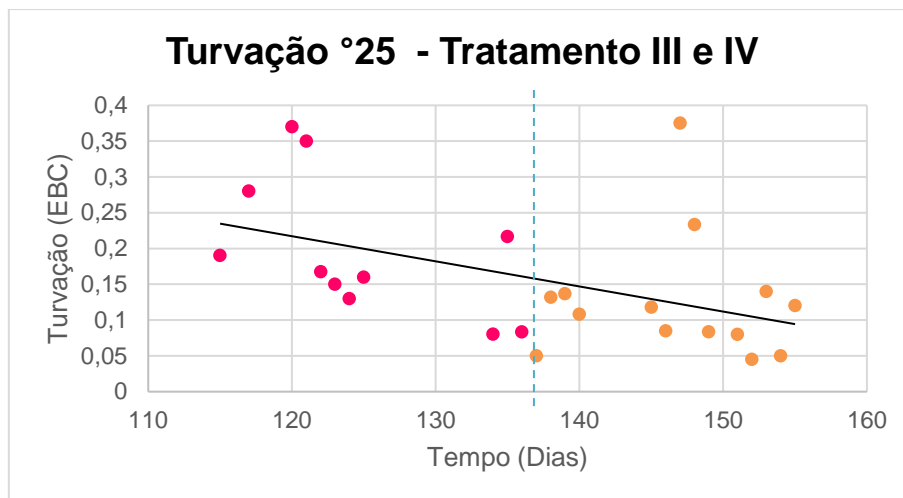
Relativamente aos Tratamentos II e IV (**Figura 4.84**), a análise ANOVA não revelou a existência de diferenças significativas entre ambos. Apesar disto, verifica-se que a turvação tem tendência a aumentar, facto que poderá ser justificado pela retirada de manucol e papaínase. Na cerveja de exportação eram empregues sílica-gel, manucol, papaínase e PVPP (Tratamento II) e passou apenas a utilizar-se sílica-gel e PVPP (Tratamento IV).



**Figura 4.85** – Comparação da Turvação °25 nos Tratamentos II (Azul) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

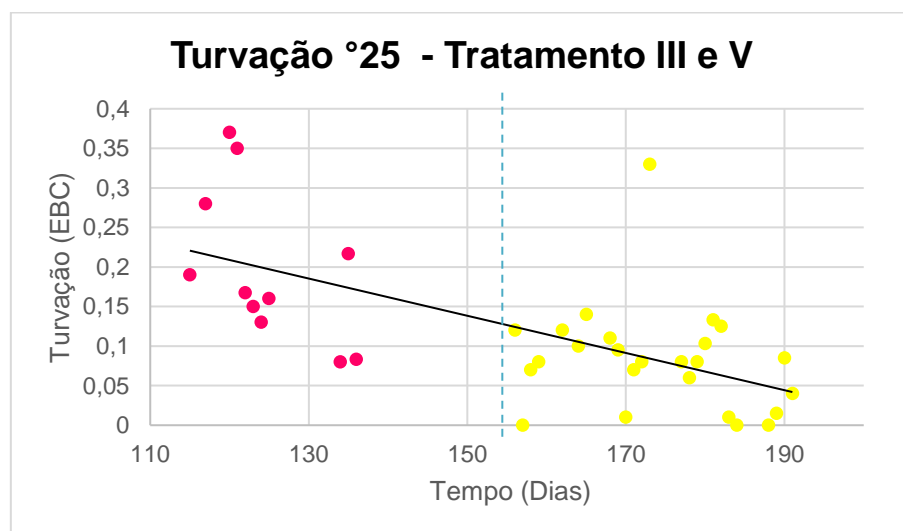
Em relação aos Tratamentos II e V (**Figura 4.85**), apesar de não existirem diferenças significativas, é possível verificar que a turvação °25 tem tendência a diminuir. O Tratamento V apenas difere do II devido ao facto de se ter retirado a adição de manucol em filtro. O manucol, como derivado do grupo dos alginatos, em função das suas características, é utilizado como espessante, gelificante e estabilizante de emulsões e de espuma (*Food Ingredients*, 2013), daí a sua remoção ter efeitos positivos a nível da diminuição da turvação em cerveja de

exportação, pois a adição de sílica-gel, PVPP e papaínase são suficientes e constituem a melhor combinação para o efeito pretendido.



**Figura 4.86** – Comparação da Turvação °25 nos Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

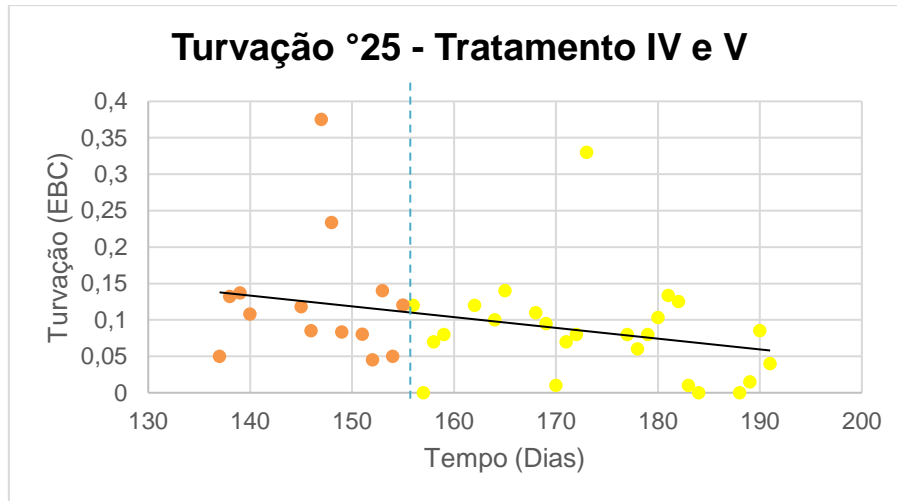
Relativamente aos Tratamentos III e IV (**Figura 4.86**), apesar de não se verificar a existência de diferenças significativas, observa-se uma diminuição da turvação °25 em PA (Cerveja de Exportação). No Tratamento IV foi retirado o manucol e passou a adicionar-se apenas sílica gel e PVPP.



**Figura 4.87** – Comparação da Turvação °25 entre os Tratamentos III (Rosa) e IV (Laranja) (Cerveja de Exportação)

Relativamente aos Tratamentos III e V (**Figura 4.87**), verificou-se a existência de diferenças significativas entre as variâncias dos valores da variável em estudo – Turvação °25 em PA (Cerveja de Exportação). Através da linha de tendência, é possível verificar que a turvação tem

tendência a diminuir, sendo que do Tratamento III ao V se procedeu a uma substituição de manucol por papaínase, que revela ser mais eficaz em cerveja de exportação, uma vez que inibe a formação de complexos proteína-polifenóis, através de hidrólise (Rehmanji, 2005). O mesmo resultado tinha sido observado na Turvação a  $^{\circ}90$  e também nos resultados obtidos no tanque de filtração para a cerveja de exportação.



**Figura 4.88** – Comparação da Turvação  $^{\circ}25$  entre os Tratamentos IV (Laranja) e V (Amarelo) (Cerveja de Exportação)

Por fim, entre os Tratamentos IV e V (**Figura 4.88**), apesar de não existirem diferenças significativas, verifica-se que a turvação  $^{\circ}25$  tem tendência a diminuir em PA (Cerveja de Exportação). Esta informação significa que a adição de papaínase tem influência positiva e necessária no auxílio da diminuição da turvação  $^{\circ}25$ , em termos de cerveja de exportação.

## 5 AVALIAÇÃO GLOBAL DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

Neste capítulo são apresentadas as conclusões gerais acerca da avaliação da eficácia da utilização de estabilizantes, de modo a diminuir a turvação da cerveja.

De modo a uma interpretação mais facilitada, as conclusões serão apresentadas em forma de tabela.

A **Tabela 5.1** apresenta os dados relativamente à Turvação °90 e Estabilidade Coloidal nas Guardas.

Relativamente à Turvação °90, não existem diferenças significativas entre os tratamentos empregues; em relação à Estabilidade Coloidal, aumentou em todos os tratamentos, o que não demonstra um aumento da estabilidade do produto, mas sim um aumento dos valores de EC (v. **Tabela 5.1**).

**Tabela 5.1**– Dados relativos à Turvação °90 e EC nas Guardas

Tratamentos	Turvação °90	EC
III e IV	-	Aumentou
III e V	-	Aumentou
IV e V	-	Aumentou

A tabela seguinte (**Tabela 5.2**) representa os dados de Turvação relativamente aos TCF's, destinados a Cerveja Nacional. É apenas feita referência aos Tratamentos entre os quais se verificou a existência de diferenças significativas entre os valores das variâncias da variável em estudo.

**Tabela 5.2**– Dados relativos à Turvação °90 e °25 nos TCF's (Cerveja Nacional)

Tratamentos	Turvação °90	Turvação °25
I e II	Aumentou	-
II e V	Diminuiu	-
III e V	Diminuiu	Diminuiu
I e III	-	Aumentou

A **Tabela 5.3** apresenta os dados de Turvação relativamente aos TCF's, destinados a Cerveja Nacional.

**Tabela 5.3** - Dados relativos à Turvação °90 e °25 nos TCF's (Cerveja de Exportação)

Tratamentos	Turvação °90	Turvação °25
I e II	Aumentou	Aumentou
I e V	Diminuiu	-
II e III	Diminuiu	-
II e IV	Diminuiu	-
II e V	Diminuiu	Diminuiu
III e V	Diminuiu	Diminuiu
IV e V	Diminuiu	Diminuiu

Relativamente ao Produto Acabado, os dados referentes à Cerveja Nacional são apresentados na Tabela seguinte (**Tabela 5.4**).

**Tabela 5.4** – Dados relativos à Turvação °90 e °25 em Produto Acabado (Cerveja Nacional)

Tratamentos	Turvação °90	Turvação °25
I e III	-	Aumentou
III e V	-	Diminuiu

Por fim, a **Tabela 5.5** representa os dados da Turvação em Produto Acabado, com destino a exportação.

**Tabela 5.5** – Dados relativos à Turvação °90 e °25 em Produto Acabado (Cerveja de Exportação)

Tratamentos	Turvação °90	Turvação °25
I e IV	Diminuiu	-
I e V	Diminuiu	Diminuiu
II e IV	Diminuiu	-
II e V	Diminuiu	-
III e V	Diminuiu	Diminuiu
I e III	-	Aumentou

A turvação na cerveja é uma característica altamente indesejável, sendo que para a combater a indústria cervejeira possui cada vez mais soluções, entre elas a adição de estabilizantes, como foi possível verificar durante o decorrer deste estudo.

De um modo geral, verificou-se que na maioria dos casos, em que a turvação tinha tendência a diminuir, se destacava a aplicação de papaínase, bem como do BrewsClarex. Nos casos em que se começou a utilizar BrewsClarex e a retirar a papaínase, a turvação aumentou. A papaínase apesar de hidrolisar as proteínas responsáveis por causar turvação na cerveja, pode também actuar de forma indesejável nas proteínas responsáveis pela espuma (Lopez e Edens, 2005). Com isto, torna-se importante conjugar um estabilizante de espuma, como é o caso do BrewsClarex.

A nível da cerveja de exportação, é indispensável a utilização de PVPP, utilizado como estabilizante na indústria cervejeira. Este adsorve especificamente a maioria dos compostos fenólicos activos (polifenóis e taninos), construindo ligações de hidrogénio. Este mecanismo corresponde à interação entre proteína e taninos, sendo que o composto desenvolvido é removido durante o processo de filtração subsequente (Braun et al., 2011). Segundo Gopal e Rehmanji (2000), o PVPP liga-se selectivamente aos polifenóis responsáveis pelo frio e pela névoa permanente, no entanto, não tem um efeito significativo na remoção do complexo proteína-polifenóis.

Quer em TCF's, quer em PA, o tratamento que demonstrou ser mais eficaz para a diminuição da turvação da Cerveja Nacional foi o Tratamento V (adição de BrewsClarex em mostos e manuol em filtro). Apesar de em PA (Cerveja Nacional), na Turvação °90, não se ter verificado a existência de diferenças significativas, no Tratamento V a turvação diminuiu.

Relativamente à Cerveja de Exportação, o Tratamento V demonstrou ser o mais eficaz em termos de diminuição da turvação em TCF's e PA, sendo que este inclui a mistura de BrewsClarex (em mostos), sílica-gel, PVPP e papaínase (em filtro).

Apesar de na maioria dos casos se ter verificado a diminuição da Turvação °90 e °25, seria de todo o interesse efectuar novas investigações e testes industriais, de modo a perceber quais os melhores estabilizantes, combinações e quantidades a utilizar, de modo a obter uma cerveja límpida e sem deteriorações.

De modo a uma interpretação mais facilitada dos resultados, a nível da eficácia dos estabilizantes na diminuição da turvação da cerveja, seria importante existir um Ensaio em Branco, ou seja, amostras de cerveja (guardas, TCF's e PA) onde não tivessem sido adicionados estabilizantes. Sendo estes introduzidos individualmente para posterior análise de EC e Turvação, de modo a perceber o efeito individual de cada um na EC e da Turvação da cerveja.

Seria também interessante, a nível futuro, perceber se a adição destes agentes não possui qualquer influência negativa a nível das propriedades físico-químicas e sensoriais da cerveja.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aehle, W. (2007). *Enzymes in industry: production and applications*. John Wiley & Sons.
- AmBev (2011). Programa de formação técnica cervejeiros. Jacareí: AmBev.
- APCV (2018). Disponível em <https://www.cervejeirosdeportugal.pt/>. Acedido a 20 de Fevereiro de 2018.
- APDA, 2012. Disponível em <https://www.apda.pt/site/upload/FT-QI-10-%20Dureza%20total.pdf>. Acedido a 20 de Fevereiro de 2018.
- Aquarone, E., Borzani, W., Netto, W. S., & de Almeida Lima, U. (2001). *Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos*. Edgard Blucher.
- Analytica EBC. Section 9 Beer. Method 9.41 "Alcohol Chill Haze in Beer (Test Chapon)".
- Anger, H. M., Schildbach, S., Harms, D., & Pankoke, K. (2009). Analysis and quality control. *In Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*, Wiley-VCH, 437-475.
- Bamforth, C. W. (2001). pH in brewing: an overview. *Technical quarterly. Department of Food Science & Technology*, University of California, Davis, CA, USA.
- Banco de Portugal (2017). Análise das empresas da indústria de bebidas. Estudos da Central de Balanços Janeiro|2017.
- Barros-Santos, R. (2012). *Estudo dos fatores que influenciam os atributos de esferas de alginato* (Dissertação de Mestrado em Biotecnologia, Ramo Alimentar, Universidade de Aveiro, Portugal).
- Berkhout, B., Bertling, L., Bleeker, Y., Wit, W., Kruis, G., Stokkel, R., & Theuws, R. (2013). The contribution made by beer to the European Economy. *Europe Economics. The Brewers of Europe: Brussels*.
- Biazon, C. L. (2008). *Utilização de adsorventes durante o processo de microextração em fase sólida de flavours de cerveja* (Dissertação de Mestrado em Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil).
- Boulton, C., & Quain, D. (2008). *Brewing yeast and fermentation*. John Wiley & Sons.
- Braun, F., Hildebrand, N., Wilkinson, S., Back, W., Krottenthaler, M., & Becker, T. (2011). Large-scale study on beer filtration with combined filter aid additions to cellulose fibres. *Journal of the Institute of Brewing*, 117(3), 314–328.

Brewers Association. (2013). *Water and Wastewater: Treatment/Volume Reduction Manual*. *Brewers Association*.

Briggs, D. E., Brookes, P. A., Stevens, R., & Boulton, C. A. (2004). *Brewing: science and practice*. Woodhead Publishing. Elsevier.

Buendía, S. M.F., & Hernández, J. A. R. (2010) *Estudio de factibilidad para instalar una planta elaboradora de cerveza* (Master Thesis em Engenharia Industrial, Instituto Politécnico Nacional, Espanha).

Carvalho, L. (2007). Dossiê Técnico: Produção de Cerveja. *Rio de Janeiro*.

Carvalho, G. B. M., Bento, C. V., & Silva, J. B. A. (2007). Elementos Biotecnológicos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 3ª parte—A Maturação. *Revista Analytica*, 27, 69-74.

Čejka, P., Čulík, J., Horák, T., Jurková, M., & Olšovská, J. (2013). Use of chemical indicators of beer aging for ex-post checking of storage conditions and prediction of the sensory stability of beer. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(51), 12670-12675.

Chapon, L. (1993). Nephelometry as a method for studying the relations between polyphenols and proteins. *Journal of the Institute of Brewing*, 99(1), 49-56.

CTS (2014). Estabilidade; Filtração; Embarrilamento; Higienização. Disponível em [http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte\\_arquivo/modulo\\_iv\\_-\\_filtracao\\_higiene\\_barril.ppt.pdf](http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte_arquivo/modulo_iv_-_filtracao_higiene_barril.ppt.pdf). Acedido a 21 de Março de 2019

De Keukeleire, D. (2000). Fundamentals of beer and hop chemistry. *Quimica nova*, 23(1), 108-112.

Díaz, M, S. (2013). Cerveza, componentes y propiedades. (Master Thesis em Tecnología Alimentar, Universidade de Oviedo, Espanha).

DSM (2013). Disponível em [https://www.dsm.com/markets/foodandbeverages/pt\\_BR/products/enzymes/brewing/brewers-clarex.html](https://www.dsm.com/markets/foodandbeverages/pt_BR/products/enzymes/brewing/brewers-clarex.html). Acedido a 10 de Março de 2018.

Eßlinger, H. M. (2009). Fermentation, maturation and storage. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*. Wiley-VCH, 207-224.

Eßlinger, H. M. & Narzib, L. (2012). Beer. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, v. 5, Wiley-VCH, 178-220.

Edens, L., van der LAN, J. M., & Craig, H. (2006). Turvação da cerveja a frio-mecanismos e prevenção por meio de proteases específicas para prolina—Parte II. *Engarrafador Moderno*, 147, 18-21.

EUROSTAT (2018). Happy Beer Day! Disponível em <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/EDN-20180803-1>. Acedido a 3 de Março de 2019.

FAO (2001). Alginate production methods. Disponível em <http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e08.htm>. Acedido a Acedido a 20 de Fevereiro de 2018

Fратиanni, A. (2016). Commonly Used Finings and Their Application for Settling and Stability. *Master Brewers Association of the Americas*. 53 (2), 82-88.

FMC (2008). Sodium Alginate. Disponível em: [https://www.stobec.com/DATA/PRODUIT/1468~v~data\\_8335.pdf](https://www.stobec.com/DATA/PRODUIT/1468~v~data_8335.pdf). Acedido a 7 de Março de 2019.

Food Ingredients Brasil (2009). Dossiê Enzimas. Disponível em <http://www.revista-fi.com/materias/113.pdf>. Acedido a 7 de Março de 2019.

Food Ingredients Brasil (2013). Os alginatos e suas múltiplas aplicações. *Revista Fib*, (26), 34-38. Disponível em [http://revista-fi.com.br/upload\\_arquivos/201606/2016060847415001464961683.pdf](http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060847415001464961683.pdf). Acedido a 14 de Março de 2019.

Galvão, M. P. (1997). A Química da Cerveja. *Jornal de Química*, 65, 6-12.

Gopal, C., & Rehmanji, M. (2000). PVPP—The route to effective beer stabilisation. *Brewers' guardian*, 129(5).

Gresser, A. (2009). Properties and quality. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*, Wiley-VCH, 359-397.

Gresser, A. (2009). Stability of beer. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*, Wiley-VCH, 399-435.

Grupo DAMM (2014). MA 1.032 – v.4 “Determinación de turbidez en las cervezas”.

Guido, L. F., Curto, A., Boivin, P., Benismail, N., Gonçalves, C., & Barros, A. A. (2007). Predicting the organoleptic stability of beer from chemical data using multivariate analysis. *European Food Research and Technology*, 226(1-2), 57-62.

Hellborg, L., & Piskur, J. (2009). Yeast diversity in the brewing industry. In *Beer in health and disease prevention*, Academic Press, 77-78.

Hoffmann, R., JAHN, S., Bavaresco, M., & SARTORI, T. (2002). Aproveitamento da cinza produzida na combustão da casca de arroz: estado da arte. In *Anais do I CONGRESSO BRASILEIRO DE ENERGIA*. 9, 1138-1143.

Holdings, K. (2018). *Kirin Beer University Report Global Beer Consumption by Country in 2017..* Disponível em [https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2018/1220\\_01.html](https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2018/1220_01.html). Acedido a 7 de Março de 2019.

Instruction Manual Turbidity Meter. Haffmans Vos Rota 90\*90/25.

Jorge, E. (2004). *Processamento de cerveja sem álcool*. (Bacharelato em Engenharia dos Alimentos, Universidade Católica de Goiás, Brasil).

Kaltner, D., Bohak, I., Forster, A., Gahr, A., & Back, W. (2001). Investigations of the influence of hop products on the microbiological stability of beer. In *EBC, Proceedings of the 28th EBC Congress, Budapest, Hans Carl Verlag, Nuremberg, Germany*.

Krottenthaler, M., & Glas, K. (2009). Brew water. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*, Wiley-VCH, 105-118.

Krottenthaler, M. (2009). Hops. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*, Wiley-VCH, 85-104.

Kuck, L. (2008). *Cerveja: Sabor e Aroma*. (Bacharelato em Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil).

Kunze, W. (1999), *Technology Brewing and Malting*. VLB. Berlim, 1999, 2ª Edição International.

Leiper, K. A., Duszanskyj, R., & Stewart, G. G. (2002). Premixing of isinglass and silica gel to obtain improved beer stability. *Journal of the Institute of Brewing*, 108 (1), 28-31.

Lindemann, B. (2009). Filtration and stabilization. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*, Wiley-VCH, 225-234.

Linko, M., Haikara, A., Ritala, A., & Penttilä, M. (1998). Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology*, 65 (2-3), 85-98.

Lopez, M., & Edens, L. (2005). Effective prevention of chill-haze in beer using an acid proline-specific endoprotease from *Aspergillus niger*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(20), 7944-7949.

Mahecha, M. M. A., Rodríguez, O. M., & Correa, H. A. M. (2011). Estudo do processo de extração de papaína a partir do látex do fruto de mamão (*Carica papaya* L.) cv. Maradol. *Acta Agronómica*, 60(3), 218-224.

Martínez Muñoz, A. (2015). *Análisis comparativo de compuestos bioactivos en cerveza artesanal y cerveza industrial* (Trabalho fim de curso em Nutrição Humana e Dietética, Faculdade de Medicina da Universidade de Lleida, Espanha).

Mastanjević, K., Krstanović, V., Lukinac, J., Jukić, M., Vulin, Z., & Mastanjević, K. (2018). Beer—The Importance of Colloidal Stability (Non-Biological Haze). *Fermentation*, 4(4), 91.

Mélotte, L. (2008). Measurement of beer colloidal stability. *The polyphenols paradox in alcohol beverages. A beer and wine paradox*, INBR, Ucl, 1-61.

Meusdoerffer, F. G. (2009). A comprehensive history of beer brewing. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*, Wiley-VCH, 1-42.

Moir, M. (2000). Hops—a millennium review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 58(4), 131-146.

Nielson (2018). *40% do volume de cerveja é consumido nos meses de verão.*. Disponível em <https://www.nielsen.com/pt/pt/insights/news/2018/40-percent-beer-consumed-in-summer.html>. Acedido a 7 de Março de 2019.

Oliveira, N. A. M. (2011). *Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja*. (Monografia, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil).

Pereira, N.O. (2015). *Extração de papaína presente no látex da casca do mamão, avaliação enzimática e microbiológica*. (Licenciatura em Química e Bacharelato em Química Industrial do Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, São Paulo, Brasil).

Pinto, A. R. M. (2013). *Avaliação do processo de secagem no fabrico de malte: caso de estudo da Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, SA* (Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar – Processamento de Alimentos, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal).

Portaria Nº1/96 de 3 de Janeiro. Diário da República nº 2/98 - I Série B. Ministérios da Economia e da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa.

Prozyn (2018). Cervejaria. Disponível em <http://www.prozyn.com/pdf/catalogos/Catalogo-Prozyn-Bebidas-Cervejaria.pdf>. Acedido a 20 de Fevereiro de 2018

Rainieri, S. (2009). Chapter 8: The brewer's yeast genome. In *Beer in Health and Disease Prevention*. Amesterdão: Academic Press-Elsevier.

---

Rehmanji, M., Gopal, C., & Mola, A. (2005). Beer stabilization technology—clearly a matter of choice. *Technical quarterly & the MBAA communicator*, 42(4), 332 – 338.

Ribeiro, F. D. M., & Santos, M. D. (2005). Cervejas e refrigerantes. São Paulo: CETESB.

Ríos, A.,C. (2008). *Selección de un filtro para clarificar y abrillantar cerveza a partir del comparativo entre un filtro de placas verticales y un filtro de candelas* (Doctoral dissertation, México).

Rocha, C. R. T. (2008). Optimização da etapa de filtração-turvação total, regeneração do PVPP e teor em SO<sub>2</sub> (Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Portugal).

Sankalia, M. G., Mashru, R. C., Sankalia, J. M., & Sutariya, V. B. (2004). Evaluation and simultaneous optimization of papain entrapped in crosslinked alginate beads using 33 factorial design and the desirability function. *Ars Pharmaceutica*, 45(3), 253-279.

Silva, F., Ferreira, I. M. P. L. V. O., & Teixeira, N. (2006). Polipeptídeos e proteínas com influencia na qualidade da espuma da cerveja e métodos analíticos utilizados no seu estudo. *Química Nova*, 29(6), 1326.

Silva, A. P. H., & Faria, F. C. (2008). Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(4), 902 – 906.

Sociedade Central de Cervejas e Bebidas. Disponível em <http://www.centralcervejas.pt/>. Acedido a 10 de Março de 2018.

Steiner, E., Becker, T., & Gastl, M. (2010). Turbidity and haze formation in beer—insights and overview. *Journal of the Institute of Brewing*, 116(4), 360-368.

Teixeira, S. P. D. R. B. (2016). Compostos Responsáveis pelo " Off-Flavour" da Cerveja. Caracterização e Impacto Sensorial (Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, Portugal).

Tenge, C. (2009). Yeast. In *Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets*, Wiley-VCH, 119-145.

Thomás, G. E., Rodolfo, H. G., Juan, M. D., Georgina, S. F., Luis, C. G., Ingrid, R. B., & Santiago, G. T. (2009). Proteolytic activity in enzymatic extracts from *Carica papaya* L. cv. Maradol harvest by-products. *Process biochemistry*, 44(1), 77-82.

Withouck, H., Boeykens, A., Jaskula, B., Goiris, K., De Rouck, G., Hugelier, C., & Aerts, G. (2010). Upstream beer stabilisation during wort boiling by addition of gallotannins and/or PVPP. *BrewingScience*, 63 (1–2), 14–22.

Vanderhaegen, B., Neven, H., Verachtert, H., & Derdelinckx, G. (2006). The chemistry of beer aging—a critical review. *Food Chemistry*, 95(3), 357-381.

Venturini Filho, W. G. V. F. (2010). *Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia*. Editora Blucher.

Verdú, M. G., (2016). *Diseño del proceso industrial para la elaboración de cerveza*. (Doctoral dissertation, Universidade Politécnica de Valência).

Zuppardo, B. (2010). *Uso da goma Oenogum para a estabilização coloidal e de espuma em cerveja* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

## ANEXO I – DETERMINAÇÃO DA TURVAÇÃO

### Material e Equipamentos:

- Material corrente de laboratório;
- Turbidímetro Haffmans Vos Rota;
- Frasco de medição de 250mL;
- Terra de diatomáceas filtrante (*Kieselguhr*);
- Papel de filtro Ø32 cm;
- Suporte de filtração;
- Filtros Millipore de 0,45µ;
- Equipamento de filtração com circuito de ar e manómetro.

### Preparação das amostras

#### No caso da cerveja em fase de fermentação/guarda:

- Atemperar a amostra a temperatura ambiente entre 20 a 23°C;
- Filtrar para um *erlenmeyer* com a ajuda de *Kieselguhr*, funil e papel de filtro, até obter 200mL de filtrado, refiltrando os primeiros 40 a 50mL de amostra;
- Filtrar a amostra recolhida no *erlenmeyer*, através de um filtro de membrana Millipore, com o auxílio do equipamento de filtração ligado a uma pressão de 1bar;
- Colocar a amostra filtrada no frasco de medição (previamente enxaguada com a própria amostra) e deixar repousar até que desapareçam as bolhas.

#### No caso da cerveja brilhante:

- Devem atemperar-se as cervejas a 20°C e desgaseificar, até que não haja libertação de CO<sub>2</sub>. O processo de desgaseificação realiza-se numa garrafa de plástico de 1L, agitando a amostra, abrindo-a de vez em quando para que se liberte o CO<sub>2</sub>;
- Deixar repousar a amostra durante uns segundos antes de a colocar no frasco de medição;
- Enxaguar o frasco de medição com a amostra, voltar a encher e aguardar até que desapareçam as bolhas.

#### No caso da cerveja turva:

- Agitar a cerveja para homogeneizar a amostra;
- Desgaseificar a amostra até que não haja libertação de CO<sub>2</sub>;
- Agitar levemente a amostra para homogeneizá-la de novo;
- Deixar repousar a amostra durante uns segundos antes de a colocar no frasco de medição;
- Enxaguar o frasco de medição com a amostra, voltar a encher e aguardar até que desapareçam as bolhas.

#### Modo operatório

1. Limpar o turbidímetro várias vezes, com água destilada, antes de começar a análise;
2. Verificar se o frasco de medição está limpo. Caso contrário, enxaguá-lo com uma solução de hipoclorito de sódio a 5% e, posteriormente, com água destilada;
3. Selecionar a reta de calibração que corresponda à turvação da cerveja;
4. Realizar uma leitura de água destilada, clicando na tecla "START", verificando que não ultrapassa o valor de 0,04 EBC;
5. Seguir o procedimento de preparação da amostra descrito anteriormente;
6. Passar por água, exteriormente, o frasco de medição, para limpar qualquer sujidade que possa conter;
7. Colocar o frasco dentro do turbidímetro e clicar na tecla "START";
8. Registrar o valor da turvação a 90° e a 25°.

## ANEXO II – DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE COLOIDAL

### Material e Equipamentos:

- Material corrente de laboratório;
- Turbidímetro Haffmans Vos Rota;
- Etanol absoluto;
- Terra de diatomáceas filtrante (*Kieselguhr*);
- Papel de filtro Ø32 cm;
- Filtros Millipore de 0,45µ;
- Garrafas de estabilidade;
- Equipamento de filtração com circuito de ar e manómetro.
- Banho de temperatura regulável, com água e glicol, termostaticado entre -6°C e -7°C, de modo a conseguir -5°C no interior da garrafa a analisar.

### Preparação das amostras

No caso da cerveja em fase de fermentação/guarda:

- Aquecer as amostras a  $20 \pm 3^\circ\text{C}$ ;
- Filtrar com o auxílio de *Kieselguhr*, pelo menos 200mL de cerveja, refiltrando os primeiros 40 a 50mL;
- Filtrar a amostra recolhida, através de um filtro de membrana Millipore, com o auxílio do equipamento de filtração ligado a uma pressão de 1bar.

No caso da cerveja filtrada ou produto acabado:

- Aquecer as amostras a  $20 \pm 3^\circ\text{C}$ ;
- Desgaseificar, por agitação num recipiente adequado, pelo menos 200mL de amostra;
- Filtrar a amostra com o auxílio de um funil e papel de filtro, refiltrando os primeiros 40 a 50mL, para arrastar a espuma retida no filtro.

### Modo operativo

- Depois de homogeneizar o filtrado, verter 150mL para uma garrafa de estabilidade limpa e seca, sem fazer espuma;
- Limpar exteriormente a garrafa, passando-a por água;
- Medir a turvação inicial no turbidímetro;
- Pipetar 4,5mL de etanol absoluto para a garrafa de estabilidade;
- Homogeneizar a cerveja com o etanol, evitando a formação de espuma;
- Colocar a garrafa no banho a -6°C;
- Após 59min e 30seg, enxaguar rapidamente o exterior da garrafa para eliminar o glicol do banho;
- Medir imediatamente a turvação final da cerveja.

