



**Escola Superior
Agrária**

Politécnico de Coimbra

ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE COIMBRA

MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

Marta Filipa Almeida Mota

Monitorização do oxigénio na etapa de filtração da cerveja e implementação de medidas de mitigação

Orientadora: Doutora Marta Helena Fernandes Henriques

Coimbra, 2021



**Escola Superior
Agrária**

Politécnico de Coimbra

ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE COIMBRA

MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

Marta Filipa Almeida Mota

Monitorização do oxigénio na etapa de filtração da cerveja e implementação de medidas de mitigação

Relatório de estágio apresentado à Escola Superior Agrária de
Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção
do grau de mestre em Engenharia Alimentar

Orientadora: Doutora Marta Helena Fernandes Henriques

Coimbra, 2021

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo tenho de agradecer aos meus pais pelo apoio incondicional, por acreditarem sempre nas minhas capacidades, por serem os melhores exemplos e me ajudarem a crescer enquanto pessoa, sem eles nada se teria concretizado.

Ao André por estar sempre ao meu lado, por ser a pessoa incrível que é, pelo carinho, amor, por toda a força e motivação que me deu durante estes últimos meses, por acreditar em mim e nunca me deixar desistir.

A todos aqueles que me são próximos, em especial à Filipa e à Bárbara por estarem sempre do meu lado, por toda a força e ajuda quando mais precisei, tudo isto seria mais difícil sem vocês, obrigada.

Ao Daniel, à Mariana e ao Tiago pelo companheirismo, por todas as gargalhadas e bons momentos, pela ajuda, paciência e por todo o ensinamento transmitido ao longo destes meses.

E, aos meus orientadores, professora Marta Henriques e Engenheiro Nicolas pelo voto de confiança, partilha de conhecimento, pela orientação, disponibilidade e por todo o apoio durante o estágio e elaboração deste relatório.

RESUMO

A cerveja é uma bebida alcoólica ancestral com grande relevância cultural. As matérias-primas para a sua produção sofreram algumas alterações ao longo do tempo, mas hoje em dia esta é composta essencialmente por cereais maltados ou não, água, lúpulo e leveduras do género *Saccharomyces*. O oxigénio, apesar de ter um papel benéfico em algumas etapas do processo produtivo é prejudicial durante a filtração, uma vez que, a sua incorporação é a principal causa do rápido envelhecimento/oxidação da cerveja embalada, assim é fundamental que esta apresente um teor de oxigénio dissolvido (OD) abaixo de 50 ppb.

Durante este trabalho foi acompanhada a incorporação de oxigénio na etapa de filtração da cerveja através da medição do teor de OD antes e após a realização da filtração por: i) por cartuchos e ii) terra de diatomáceas. Na maioria dos lotes de cerveja filtrados por cartucho verificou-se um decréscimo da concentração de OD e, nos casos em que ocorreu incorporação de OD, o nível mais elevado descrito foi 160 ppb. Ao invés, verificou-se a presença de teores de OD muito superiores aos recomendados aquando da realização do método de filtração por terras diatomáceas em todos os lotes analisados, tendo sido obtidas medições acima de 90 ppb, sendo que três dos lotes em estudo apresentaram teores de OD mais discrepantes, respetivamente, 267, 215 e 213 ppb.

Desta forma, após a identificação das principais causas foram destacadas medidas de mitigação a implementar durante o processo produtivo, nomeadamente, a medição contínua do OD no equipamento de filtração a terras diatomáceas, de modo a evitar a incorporação de oxigénio e, assim, conservar as propriedades sensoriais, conferir uma maior estabilidade e incrementar o tempo de vida da cerveja embalada.

Palavras-chave: cerveja, filtração por terras diatomáceas, filtração por cartucho, oxigénio dissolvido

ABSTRACT

Beer is an ancestral alcoholic beverage with great cultural relevance. The raw materials that compose it have undergone some changes over time, but today it is essentially composed of cereals, malted or unmalted, water, hops and yeasts of the *Saccharomyces* genus. Even though oxygen has a beneficial role in some stages of the production process, it can be harmful during filtration, since its incorporation is the main cause of the fast ageing of the packaged beer, so it must present a dissolved oxygen content (DO) below 50 ppb.

During this work, the incorporation of oxygen in the beer filtration step was monitored by measuring the DO content before and after filtration by: i) cartridges and ii) diatomaceous earth. In most of the cartridge filtered batches of beer there was a decrease in the concentration of DO and, in cases where there was incorporation of DO, the highest level described was 160 ppb. On the contrary, it was verified that the presence of OD contents when performing the diatomaceous earth filtration method in all analysed batches was much higher than those recommended with measurements above 90 ppb, and three of the studied batches presented the most discrepant OD contents, respectively, 267, 215 and 213 ppb.

Thus, after identifying the main causes, mitigation measures were highlighted to be implemented during the production process, namely, the continuous measurement of the DO in the diatomaceous earth filtration equipment, in order to avoid the incorporation of oxygen and, nevertheless, conserve the sensory properties, provide greater stability and increase the shelf life of packaged beer.

Keywords: beer, diatomaceous earth filtration, cartridge filtration, dissolved oxygen

ÍNDICE

Resumo	iii
Abstract.....	v
1 Introdução.....	1
1.1 Objetivos	1
1.2 Enquadramento da Empresa.....	2
2 Revisão Bibliográfica	3
2.1 Cerveja	3
2.2 Matérias-Primas	5
2.2.1 Cereais.....	5
2.2.2 Água.....	8
2.2.3 Lúpulo.....	9
2.2.4 Leveduras.....	11
2.3 Processo Produtivo.....	13
2.4 Filtração da Cerveja	20
2.4.1 Filtração por Terras Diatomáceas	22
2.4.2 Filtração por Cartuchos.....	25
2.5 Oxigénio.....	28
3 Materiais e Métodos	31
3.1 Sistemas de Filtração.....	31
3.1.1 Cartuchos	31
3.1.2 Terras Diatomáceas.....	33
3.2 Medição do Oxigénio dissolvido (OD).....	39
4 Resultados e Discussão.....	43
5 Conclusão	50
Referências.....	51
Anexos	57
Anexo 1	58

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Especificidades técnicas dos tipos de terras diatomáceas utilizadas na empresa.	34
Tabela 2 - Dosagem dos diferentes tipos de terras utilizadas na empresa para.....	35
Tabela 3 - Tipos de cervejas, respetivos lotes associados, o tipo de filtração efetuada e o volume aproximado de cerveja do lote a filtrar.....	43
Tabela 4 - Tipos de cervejas filtradas por cartuchos e os respetivos housing's utilizados....	44
Tabela 5 – Valores médios referentes à medição de OD nas cervejas filtradas por cartuchos.	58
Tabela 6 - Valores médios referentes à medição de OD nas cervejas filtradas por terra de diatomáceas.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Gama de cervejas e sidras produzidas na empresa Essência D'Alma	2
Figura 2 - Morfologia dos lúpulos	9
Figura 3 -Esquema simplificado das reações que ocorrem dentro das células de levedura .	12
Figura 4 - Processo de fabrico da cerveja na empresa Essência D'Alma.	14
Figura 5 - Modelo representativo de um filtro de vela	23
Figura 6 - Esquema representativo da filtração a cartuchos	27
Figura 7 - Valores padrão de OD para as várias etapas do processo produtivo da cerveja	30
Figura 8 - Sistema de housing com 3 cartuchos utilizado na empresa.	32
Figura 9 - Fotografias dos três tipos de terras utilizados na filtração	34
Figura 10 - Filtro de terras diatomáceas da empresa (esquerda); Recolha da amostra de cerveja filtrada para análise dos parâmetros de turbidez e °Brix (direita).	36
Figura 11 - Representação esquemática da etapa de formação das pré-camadas	37
Figura 12 - Esquema representativo da adição e recirculação da camada contínua	37
Figura 13 - Fase final da filtração a terras.	38
Figura 14 - Orbisphere 3100, equipamento portátil para medição do OD na cerveja	39
Figura 15 - Tecnologia LDO	40
Figura 16 - Esquema de montagem do medidor de OD à cuba de fermentação.....	41
Figura 17 - Imagem representativa dos modelos de aparelhos utilizados na empresa para avaliação dos parâmetros da cerveja.....	42
Figura 18 - Teor de oxigénio dissolvido nas cervejas filtradas a cartuchos.	45
Figura 19 - Teor de OD nas cervejas filtradas a terras diatomáceas.....	46
Figura 20 - Análise comparativa da influência de diferentes métodos de filtração no mesmo tipo de cerveja.....	47

ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

ABV	Álcool por volume
APA	<i>American Pale Ale</i>
CIP	<i>Cleaning-In-Place</i>
DMS	Dimetilsulfureto
OD	Oxigênio Dissolvido
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
IPA	<i>Indian Pale Ale</i>
KG	<i>Kieselguhr</i>
LDO	<i>Luminescent Dissolved Oxygen</i>
LOX	Lipoxigenase
NTU	<i>Nephelometric Turbidity Unit</i>
ROS	<i>Reactive oxygen species</i>

1 INTRODUÇÃO

1.1 OBJETIVOS

A cerveja é uma bebida alcoólica com raízes ancestrais cujas características sensoriais e fitoquímicas evoluíram ao longo do tempo desde a cerveja primariamente produzida no período Neolítico¹. No entanto, apesar da evolução tecnológica, os processos artesanais de fabrico da cerveja ainda permanecem nos dias de hoje e embora existam divergências entre as propriedades sensoriais da cerveja atual e as da cerveja ancestral a sua base continua inalterada, sendo composta essencialmente por malte, água, fermento e lúpulo².

Hoje em dia, a ampla diversidade destas matérias-primas permite criar cervejas com propriedades aromáticas, sensoriais e visuais mais complexas o que faz com que esta seja uma das bebidas mais consumidas por todo o mundo. A evolução na tecnologia permitiu não só um avanço nos métodos utilizados na produção da cerveja e uma produção em larga escala, mas também, o estudo dos processos químicos e biológicos presentes nas várias etapas de fabrico, esta perceção permitiu instalar novos métodos e medidas com a capacidade de aumentar o tempo de conservação das propriedades físico químicas e sensoriais da cerveja.

Um dos maiores adversários à conservação destas características é o oxigénio, pois apesar de ser um elemento importante durante a fase da maltagem e crucial para as leveduras durante a fermentação, a sua concentração deve ser controlada, uma vez que, o oxigénio dissolvido (OD) contribui para a oxidação de vários componentes da cerveja e provoca um desequilíbrio químico que pode levar à alteração do sabor, cor, aroma e turbidez provocando uma deterioração mais rápida do produto. Entre todas as fases de produção da cerveja, a filtração, processo que potencia o aumento do tempo de vida do produto através da remoção das partículas suspensas, como os flóculos de leveduras e resíduos de lúpulos, é uma etapa crítica, visto que, simultaneamente, promove a solubilização de oxigénio na cerveja o que pode ser prejudicial se não forem utilizadas medidas para controlar e mitigar este problema.

Este estágio teve como principal objetivo a aquisição de competências e conhecimentos sobre as várias etapas do processo de fabrico da cerveja, principalmente sobre os métodos utilizados para a filtração das cervejas artesanais, assim como os métodos de medição de oxigénio durante esta fase do processo produtivo, de modo a implementar medidas de controlo e mitigar a incorporação de oxigénio nas cervejas.

1.2 ENQUADRAMENTO DA EMPRESA

Este relatório foi desenvolvido no âmbito do estágio curricular profissionalizante realizado na empresa Essência D'Alma sediada em Ossela, Oliveira de Azeméis. Foi fundada em 2010 por três amigos com uma paixão comum pela cerveja. A sua principal atividade é a produção de cerveja artesanal tendo, no entanto, nos últimos anos abraçado novos projetos na área da produção de refrigerantes biológicos, *kombucha* alcoólica, *kefir*, bebidas energéticas, águas gaseificadas com álcool, cocktails, entre outros.

A marca ostenta uma ampla variedade de cervejas (**Figura 1**), de diversos estilos, como as da gama original composta pela Loira (*German Pilsner*), Trigo (*Wheat Beer*), Rubi (*Märzen*) e Preta (*Dark Lager*) e as da gama de harmonização constituída pela Extra (*Doppelbock*), Orgânica (*American Pale Ale*), Thartaruga (*Indian Pale Ale*) e pela Nautika (*Baltic Porter*). Para além disso, a empresa dispõe de três sidras, a Sidra Vadia Maçã, a Sidra de Pera e a mais recente novidade, a Sidra de Frutos Vermelhos, assim como de outras como a Vadia 100 (sem álcool) e edições especiais e cervejas produzidas em parceria com outras marcas ou autores.

O principal foco da empresa é a sua própria marca de cerveja artesanal, a Cerveja Vadia, reconhecida tanto a nível nacional, considerada pioneira para a evolução do mercado das cervejas artesanais, como a nível internacional tendo conquistado ao longo dos anos vários prémios em concursos internacionais de cerveja, tais como o World Beer Awards e *Concours International de Lyon*³.

Os produtos da marca, cervejas e sidras, são atualmente comercializados a nível nacional através do canal Horeca em cervejarias, restaurantes, lojas de produtos artesanais e através da loja online, a Vadia em Casa. Para além disso, estas são também comercializadas em grandes superfícies como a Sonae, a Auchan e a Mercadona.



Figura 1 - Gama de cervejas e sidras produzidas na empresa Essência D'Alma³.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CERVEJA

Os primeiros registos acerca do consumo de cerveja remetem para 2800 AC, onde aparece associada a práticas religiosas, tratamento de doenças e atividades culturais, no entanto, presume-se que o fabrico e o consumo deste tipo de bebidas faz parte da atividade humana desde o início da civilização durante o período neolítico^{4,5}. Nos dias de hoje a cerveja é uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo, apresentando um consumo global anual de mil milhões de litros, sendo que, na Europa representa 40% do consumo total de álcool^{2,4,6}.

Segundo a Portaria n.º 1/96 de 3 de janeiro, a cerveja é por definição uma bebida obtida através da fermentação alcoólica de um mosto, composto por malte de cereais juntamente com flores de lúpulo ou derivados e água potável, por ação de leveduras do género *Saccharomyces*, em que o teor de álcool por volume final seja superior a 1,2% e o plato inferior a 13, entenda-se por graus de plato a medida utilizada para a quantificação do teor de açúcares presentes no produto⁷.

Atualmente existem vários estilos e tipos de cerveja, de acordo com o processo de fermentação e ingredientes utilizados, isto é, cada um apresenta uma característica intrínseca transmitida quer pelas leveduras, pelo cereal, pelo perfil da água local, pelo tipo de lúpulo, ou até mesmo pela combinação destes quatro elementos⁸.

Os dois principais estilos de cerveja comercializados são *lager* e *ale*, sendo que a maioria das cervejas existentes no mercado, cerca de 94 %, são classificadas como *lagers*⁵. Estas são cervejas que fermentam através de leveduras *Saccharomyces pastorianus* que realizam o processo fermentativo a baixas temperaturas, numa gama de temperaturas entre os 7 - 15 °C^{5,9}. As cervejas *lager* apresentam assim um teor de álcool por volume que varia entre 4,5% e 5,5% dependendo do tipo, como por exemplo as *Pilsner* que apresentam uma cor levemente dourada e límpida, espuma clara e cremosa, e um palato mais simples e fresco, as *Doppelbok* originalmente produzidas por monges em Munique, apresentam uma cor característica que varia entre cobre e castanho escuro, um sabor mais doce e mais rico em malte torrado⁵.

As cervejas *ale*, são mais predominantes em países como a Alemanha, Bélgica e Inglaterra e constituem uma pequena fração do mercado, cerca de 2%^{4,5}. Diferenciam-se das anteriores principalmente pelo tipo de leveduras utilizadas durante o processo de fermentação,

que neste caso é realizado por *Saccharomyces cerevisiae*¹⁰. Para além disso, estas fermentam a temperaturas mais altas que o estilo referido anteriormente, entre os 18 - 25 °C, o que lhes confere particularidades sensoriais como o aroma frutado característico da fermentação à temperatura ambiente^{5,8}. Como exemplos, temos vários tipos de cerveja como a *Weizen*, um tipo de cerveja não filtrada produzida através de pelo menos 50% de malte de trigo e que apresenta um aroma frutado característico a banana e cravinho, a *Indian Pale Ale* (IPA) que se apresenta como uma versão mais complexa da *Pale Ale* composta pelos aromas intrínsecos providos de uma grande variedade de lúpulos, a *American Pale Ale* (APA) que apresenta uma cor dourada e um sabor a caramelo característico, entre outras⁸.

Para além das cervejas *lager* e *ale*, existem também as cervejas *stout*, que apresentam geralmente uma cor escura e possuem aromas e sabores mais fortes e intensos cujo grau de torra do malte é a principal característica de distinção perante outros estilos de cerveja⁵. Estas representam cerca de 1% das cervejas produzidas a nível mundial⁵.

A produção da cerveja, à semelhança do vinho, foi uma das pioneiras na aplicação do conceito de fermentação de alimentos, pois através do bioprocessamento de fermentação alcoólica do mosto proveniente dos cereais maltados, pela ação de leveduras, obtém-se uma bebida alcoólica não destilada⁵. Ao longo do tempo foram ocorrendo alterações nos ingredientes que constituem a base da cerveja, assim como na legislação, como foi o caso da lei considerada pioneira na implementação de legislação alimentar conhecida como *German Beer Purity Law*, de 1516, que exige que a cerveja não deve ser produzida através de mais nada além de água, malte e lúpulo¹. Hoje em dia ainda se encontra em vigor, mas apenas na Alemanha, no entanto, após a descoberta e identificação dos agentes fermentativos séculos mais tarde, a levedura passou a ser o quarto ingrediente base para o fabrico artesanal de cerveja¹.

Em suma, embora se tenha observado um decréscimo no mercado da cerveja nos últimos anos, fomentado pelo aparecimento da pandemia de Covid-19, segundo o *Global Market Report 2021* espera-se um crescimento no consumo de cerveja a nível mundial, o que potencia o aumento do número de cervejeiras, que só na Europa sofreu um aumento de mais de 50% desde 2013¹¹. A produção de cerveja continua a ser uma atividade relevante nos tempos modernos, com cariz multicultural importante a nível global e com uma ampla diversidade de estilos e tipos de cerveja, puros ou com adições de fruta, café, canela, baunilha, entre muitos outros ingredientes.

2.2 MATÉRIAS-PRIMAS

As principais matérias-primas para a produção de cerveja são os cereais, a água, os lúpulos e as leveduras.

2.2.1 Cereais

O malte de cevada, *Hordeum vulgare* L., é a matéria-prima mais importante no fabrico da cerveja e a grande característica distintiva deste cereal baseia-se na sua capacidade de prosperar em condições de cultivo muito diversas e adversas, sendo produzido desde climas frios subárticos a climas mais quentes subtropicais^{12,13}.

A cevada é o tipo de cereal mais utilizado no processo cervejeiro, mas não é o único. Segundo a FAO, Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, existem vários cereais, além desta, que apresentam grande significância para a produção de cerveja, como é o caso do trigo, aveia, centeio, milho, millet, arroz, assim como alguns pseudocereais como a quinoa e o trigo sarraceno, estes podem ser utilizados ao invés ou em conjunto com a cevada^{14,15}.

O primeiro passo para a fermentação é a preparação do malte. Em primeiro lugar dá-se a maceração dos grãos de cereais, de seguida estes são colocados durante vários dias em meio ambiente controlado, sob condições entre os 15 - 20 °C, e húmidas, de modo a ocorrer o processo de germinação. Por último os grãos germinados são secos a temperaturas crescentes, numa fase primária a 40 - 50 °C alcançando ao longo do tempo os 100 - 110 °C. Esta etapa de secagem dura entre 20 a 50 horas e resulta no cessar das reações químicas ativadas durante a germinação, na conservação dos complexos enzimáticos, no desenvolvimento do sabor característico dos grãos maltados e num produto com maior estabilidade e capacidade de conservação¹⁶⁻¹⁸.

Apesar da importância do processo de maltagem, os cereais não maltados também podem ser usados como matéria-prima, assim como os açúcares e xaropes, os quais se designam por ingredientes adjuntos que possuem a capacidade de conceder características sensoriais singulares e apresentam um custo associado inferior ao malte de cevada¹⁵.

Os grãos de cereais, principalmente os grãos de cevada pois são a base da grande maioria das cervejas, são constituídos por vários componentes, cada um com um papel específico imprescindível neste processo produtivo. O amido é o componente mais importante e constitui cerca de 63% do peso seco total do grão, sendo que 20 - 25% consiste em amilose

e 75 - 80% em amilopectina. Destas, a amilopectina é a molécula que detém uma maior complexidade apresentando uma estrutura macromolecular com a capacidade de absorção de água, o que permite uma degradação enzimática mais fácil, enquanto, por outro lado, a amilose não aglutina o que dificulta a ação enzimática^{12,19}.

Os β -glucanos, englobam os constituintes da hemicelulose que compõe 7% do peso dos grãos, têm influência direta na viscosidade do mosto e, subsequentemente, da cerveja^{12,19}. Para além destes, o conteúdo lipídico da cevada consiste maioritariamente em ácidos gordos, que representam 3% do peso do cereal, sendo grande parte desta percentagem perdida durante a fermentação devido às alternâncias na temperatura durante a ebulição do mosto. Por um lado, os ácidos gordos que resistiram e se encontram presentes na mistura após a ebulição podem ser facilmente oxidados, o que impacta negativamente as propriedades organoléticas da cerveja como a retenção de espuma e o sabor. Por outro lado, os ácidos gordos insaturados têm papel importante para a viabilidade das leveduras, pois atuam no transporte de nutrientes para o meio intracelular e inibem a formação compostos secundários por parte destes microrganismos, como o caso de alguns ésteres que transmitem à cerveja *off-flavors*, isto é, propriedades sensoriais desagradáveis^{12,19-21}. Ademais, o malte de cevada é rico em vitaminas e polifenóis que influenciam a cor, espuma, sabor e a turbidez da cerveja e minerais, que à semelhança dos lípidos, integram 3% do peso seco do grão. Entre os mais importantes distinguem-se os sais de potássio, silicatos e os fosfatos que influenciam o pH do mosto^{12,19}.

Entre todos os componentes moleculares da cevada, as proteínas são indispensáveis para a qualidade do malte e da cerveja, o teor de proteína compreende-se entre 8 - 15% do peso total do grão. No entanto, devido às temperaturas elevadas na etapa de fervura do mosto e à ação das enzimas proteolíticas, a maior parte destas proteínas são hidrolisadas dando origem a péptidos e aminoácidos essenciais para o metabolismo das leveduras durante a fermentação. Além disto, estes derivados proteicos, em conformidade com os componentes referidos anteriormente, têm influência nas características sensoriais do produto final, como a turbidez e a estabilidade da espuma^{13,22}.

A etapa da germinação é fundamental para a viabilidade do processo produtivo, pois é nesta que se desenvolvem as enzimas necessárias para as fases de produção subsequentes, como a brassagem, na qual o amido e as proteínas são hidrolisadas dando origem ao mosto, líquido composto por açúcares que vão, posteriormente, ser utilizados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica^{15,17,23}. As principais enzimas responsáveis pela hidrólise do amido em

açúcares são as α - e β -amílases. Estas apresentam temperaturas ótimas diferentes, a α -amílase apresenta uma temperatura ótima superior em torno dos 73 -74 °C e um valor ótimo de pH de 5,2, enquanto que para a β -amílase a temperatura ótima situa-se nos 62 - 63 °C para um valor de pH ótimo de 5,5^{24,25}.

As condições de maltagem podem ser alteradas de modo a obter maltes com características distintas que vão de acordo às necessidades dos cervejeiros para obtenção de cervejas com propriedades sensoriais particulares. Nos últimos anos, com o avanço da tecnologia, foram desenvolvidos maltes modificados geneticamente, como por exemplo um malte com déficit de polifenóis que contribuem para a elevada turbidez da cerveja e outro malte com a incapacidade de sintetizar a enzima lipoxigenase que contribui para o envelhecimento da cerveja e para a produção de *off-flavors*^{16,18}.

Em analogia com outras bebidas alcoólicas, os cereais estão para a cerveja como as uvas estão para o vinho, isto é, são imprescindíveis ao processo de fermentação, assim como possuem características essenciais que são transmitidas à cerveja, como o aroma, o sabor, o corpo, a sensação aveludada, entre outros. Se por um lado, existem maltes que estão na base de vários tipos de cervejas, por si só ou juntamente com outros maltes de diferentes cereais, por outro lado, há maltes especiais utilizados em escalas menores com o intuito de acrescentar cor e sabor às cervejas. Na preparação de uma cerveja do estilo *lager* ou *pilsner*, os cervejeiros utilizam malte *Pilsen* que apresenta uma cor amarela/dourada e sabores e aromas mais simples, para as *ale* habitualmente usam maltes que proporcionam uma cor âmbar, como o malte *Vienna*, enquanto na produção de *porters* e *stouts* são utilizados maltes mais torrados, de cor escura, como o malte Chocolate, pobre em atividade enzimática devido ao dano provocado pelas altas temperaturas da torra^{2,8,26}.

Portanto, a qualidade do malte está dependente das propriedades dos grãos de cereais, incluindo a forma, o tamanho, a homogeneidade, a dureza, o teor de proteínas e carboidratos, entre outros. A utilização de um malte não conforme de baixa qualidade pode levar a fermentações não viáveis, elevada turbidez, problemas durante a etapa de filtração e formação de *off-flavors*, deste modo, para incrementar a eficiência da fermentação e o rendimento da cerveja devem ser utilizados em maior proporção maltes com elevada atividade enzimática, isto é, menos processados ou com pouca torra como o *pilsen*^{2,27}.

2.2.2 Água

A água é a matéria-prima mais importante da cerveja, não só por ser o componente em maior quantidade, representando 90% do conteúdo da cerveja, cujos constituintes têm um papel ativo em todas as etapas da fermentação, mas também porque é necessária durante todo o processo de fabrico nos processos diretamente relacionados com a produção, tais como a diluição, de modo a ajustar o teor alcoólico para valores desejados. Assim como, para outros processos secundários como por exemplo para sistemas de limpeza, como o CIP das cubas, para recirculação das terras diatomáceas aquando da realização deste tipo de filtração e até mesmo para movimentar fisicamente o mosto ou a cerveja para os locais desejados^{5,23,28}.

A qualidade e a pureza da água têm um papel crucial na cerveja, daí ser frequentemente controlada por legislação, como é o caso das medidas de controlo descritas no Decreto de Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto para o tratamento de águas utilizadas na indústria alimentar para fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos ou substâncias destinados ao consumo humano^{12,29}.

Como tal, devem ser realizadas análises, de forma regular, ao perfil químico e microbiológico da água a ser usada na produção, de modo a avaliar as características sensoriais como a cor, turbidez, odor e o sabor, assim como os níveis de compostos orgânicos e inorgânicos em solução. Para além disso, verificar se os parâmetros microbiológicos estão em conformidade e, portanto, analisar se é potável, para que não potencie alterações quer na estabilidade química da cerveja, quer, a nível sensorial e, desta forma, ser prejudicial à qualidade do produto final^{2,12,28}.

Um dos parâmetros básicos a ter em conta aquando do uso da água para produção de cerveja é a dureza. A dureza da água é por definição, a soma do conteúdo de iões alcalino terrosos, como o cálcio e o magnésio presentes. A análise para determinar a quantidade de iões de cálcio presentes na água é fundamental para que se consiga alcançar um processo produtivo eficiente⁵. Entre todos os iões presentes na água, o ião Ca^{2+} padece de uma importância excepcional pois atua em diferentes fases da produção, protege a enzima α -amílase, através da redução do pH da mistura dos grãos de malte e água na brassagem, devido à sua reação com os fosfatos do malte, para valores de pH ótimos para promover a atividade enzimática. Durante a ebulição neutraliza a precipitação do excesso de compostos nitrogenados e atenua a extração excessiva dos componentes do lúpulo, para além disso, desempenha um papel crucial durante a fermentação, uma vez que é indispensável para que

ocorra floculação das leveduras^{2,30,31}. No caso das análises realizadas reportarem um déficit destes íons alcalinos, os cervejeiros podem proceder à adição de sais de cálcio ou magnésio ou utilizar um substrato ácido, como por exemplo adição de maltes mais torrados que apresentam uma maior acidez natural^{19,32}.

2.2.3 Lúpulo

O lúpulo, *Humulus lupulus* L., é uma planta trepadeira perene e dioica que pertence à família *Cannabaceae* e é nativa da Europa, Ásia Ocidental e América do Norte³³. Historicamente, a cerveja medieval não incluía esta matéria-prima, por isso o seu período de conservação era muito curto e ficava ácida muito rapidamente pois sofria um processo de fermentação acética passando de cerveja a um vinagre de malte³⁴. Portanto, surgiu a necessidade de obter uma bebida suficientemente estável, que apresentasse um tempo de vida prolongado para ser transportada e consumida em embarcações marítimas ao longo das costas do Norte da Europa o que levou à procura e descoberta desta planta que passou a ser um dos ingredientes base da cerveja¹.

Para adição na cerveja são colhidas apenas as flores da planta, também denominadas por cones (**Figura 2**), apesar de poderem ser utilizados na sua forma original, hoje em dia muitas cervejeiras optam pela aquisição destes cones já processados em forma de pellets obtidos através da secagem, moagem, separação, mistura e compactação dos cones, ou em forma de extratos que resultam da extração através do uso de etanol ou dióxido de carbono^{2,23,35}. Tanto os pellets como os extratos apresentam uma composição química diferente da dos cones de lúpulos frescos e são mais facilmente armazenados, pelo que as propriedades de interesse têm um tempo de vida útil superior às flores. No entanto, este armazenamento tem de ser feito a baixas temperaturas, ao abrigo da luz solar e acondicionados em embalagens fechadas para evitar a oxidação dos compostos^{2,5,19}.

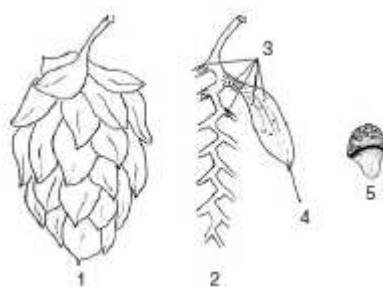


Figura 2 - Morfologia dos lúpulos: cone (1), eixo (2), glândulas de lupulina (3 & 5), folha (4)¹².

Apesar de terem sido primariamente utilizados pelas suas propriedades conservantes e protetoras, devido ao seu efeito de redução do pH e da atividade antibacteriana que evita a formação de microrganismos, a razão principal pela sua integração no processo de fabrico da cerveja focou-se na capacidade de fornecerem um aroma, sabor e amargor agradável à cerveja, assim como estimulam a formação de uma espuma mais estável^{4,5,23}.

Existem inúmeras variedades de lúpulo o que potencia uma vasta gama de possibilidades no que toca a diferentes propriedades sensoriais. Estes podem distinguir-se entre lúpulos de aroma e lúpulos de amargor. As propriedades advêm das resinas e óleos essenciais que se encontram nas glândulas de lupulina (**Figura 2**) e que são os elementos responsáveis por conferir o aroma e o amargor caraterísticos que definem o tipo de cerveja²³.

As resinas do lúpulo constituem cerca de 10 - 20% do seu peso seco total e englobam as substâncias com potencial de amargor, os α -ácidos e os β -ácidos. Os α -ácidos, também denominados por humulona, são responsáveis por 85% do amargor da cerveja, pois são transformados em iso- α -ácidos durante a ebulição do mosto, enquanto os β -ácidos apresentam fraca solubilidade no mosto e na cerveja^{12,36,37}. Para além destas substâncias, o lúpulo possui óleos essenciais responsáveis pelo aroma caraterístico, estes consistem em aproximadamente 0,4 - 2,0% de agentes aromáticos por peso seco. Até hoje foram identificadas mais de 400 substâncias voláteis, no entanto, a composição destes óleos é fortemente afetada pelas condições de armazenamento e processamento, e diverge consoante a variedade do lúpulo^{12,38}. Por último, os polifenóis, outros componentes de interesse, representam 4 - 14% do peso seco e à semelhança das resinas e dos óleos essenciais, têm também influência na qualidade final da cerveja devido às suas propriedades antioxidantes no caso dos polifenóis de baixa massa molecular e à capacidade de alteração da cor e sabor. Contribuem também para a redução da estabilidade coloidal e incremento da turbidez da cerveja por parte dos polifenóis de elevado peso molecular^{5,12}.

Em suma, os lúpulos aromáticos apresentam uma baixa concentração de α -ácidos e são ricos em óleos essenciais, como por exemplo o linalol que é um dos componentes mais aromáticos dos óleos, presente numa concentração em peso até 1,1%, considerada a substância primária responsável em grande parte pelo aroma floral caraterístico de uma gama de variedades de lúpulos³⁸. Uma vez que os óleos essenciais são voláteis, os lúpulos de aroma são adicionados apenas no final da fervura ou para uma maior intensidade aromática estes são

adicionados durante o *dry hopping*, ao invés dos lúpulos de amargor que são abundantes em α -ácidos e possuem poucos óleos essenciais²³.

Relativamente aos diferentes tipos de lúpulo existe uma ampla gama de variedades dispersas por todo o mundo com espécies próprias de cada região. Por exemplo o *Cascade* que é uma variedade nativa americana que exala um aroma florar, cítrico e picante, com notas de toranja, ou o *Perle* com origem na Alemanha, apresenta um aroma agradável a pinho com elementos cítricos e um toque de especiarias^{8,39}.

2.2.4 Leveduras

Segundo a *German Beer Purity Law*, o fabrico de cerveja regia-se pelo uso exclusivo de cereais maltados, água e lúpulos como ingredientes base para a produção desta bebida, uma vez que as leveduras não eram tecnologicamente conhecidas²³. Embora não existisse um vasto conhecimento sobre a definição específica de leveduras em tempos passados, estas estiveram sempre envolvidas neste processo fermentativo e apesar da inexistência de dados científicos, o conhecimento geral da população ancestral começava a ligar certos aspetos relacionados com a fermentação e estes agentes fermentativos, o que levou à descoberta, na Idade Média, que a produção de cervejas com melhor qualidade se dava perto de padarias⁵.

Em 1680 Antonie van Leeuwenhoek observou pela primeira vez células de leveduras através de um microscópio, no entanto, as leveduras apenas foram consideradas como responsáveis pela fermentação após os estudos realizados por *Pasteur* sobre a cerveja em 1876^{40,41}. O conhecimento sobre a ciência por detrás do processo cervejeiro progrediu a partir do século passado, face à evolução tecnológica que permitiu melhorias na engenharia, microbiologia e análise instrumental, no entanto, os avanços na tecnologia molecular, biologia e engenharia genética nas últimas décadas possibilitaram uma compreensão mais aprofundada sobre estes organismos que desempenham um papel fundamental na produção de cerveja².

As leveduras pertencem ao reino dos fungos e caracterizam-se por serem microrganismos eucarióticos, unicelulares, heterotróficos que se reproduzem assexuadamente através de gemulação, na qual se desenvolve uma protuberância na célula mãe que posteriormente se separa originando uma nova célula de levedura^{2,5,19}. Dependendo do substrato a ser usado por estes organismos como fonte de energia juntamente com a presença ou ausência de oxigénio no meio de crescimento pode ocorrer por respiração ou fermentação, este sistema é descrito pelo efeito de *Crabtree* que consiste na repressão do metabolismo

respiratório por parte da glicose, isto é, uma concentração elevada de glicose no meio, na presença de oxigénio, leva à degradação deste substrato através da via da fermentação alcoólica aeróbia^{42,43}.

Dado que o mosto da cerveja é composto por carboidratos na forma de açúcares como a frutose, glicose, sacarose, entre outros, as leveduras optam pela via metabólica fermentativa que se inicia com a glicólise que dá origem às moléculas de piruvato que posteriormente sofrem descarboxilação originando o acetaldeído que é reduzido resultando na produção de etanol e dióxido de carbono (**Figura 3**)⁴⁴.

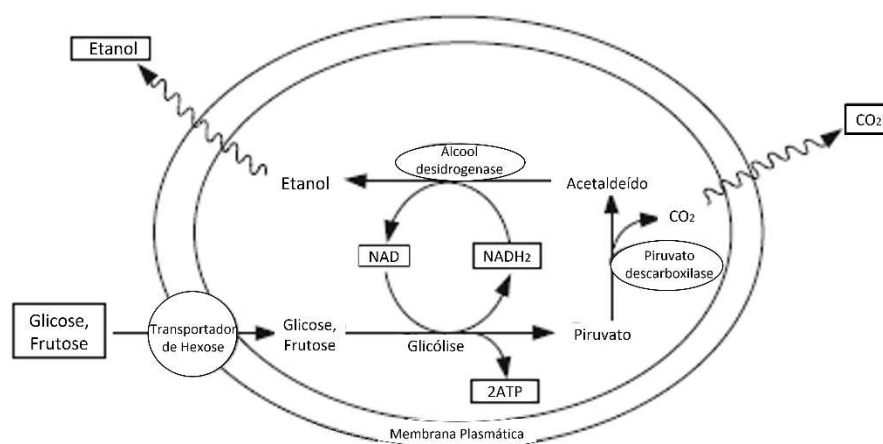


Figura 3 -Esquema simplificado das reações que ocorrem dentro das células de levedura¹⁷.

Para além destes, durante a fermentação são produzidos outros compostos que podem ser benéficos para a qualidade sensorial final da cerveja, como é o caso dos ésteres e outros álcoois além do etanol que influenciam o aroma alcoólico com notas florais características. No entanto, outros compostos podem ter um papel negativo como por exemplo o diacetilo, compostos de enxofre e o acetaldeído, sendo que parte destes compostos são eliminados durante a fase da maturação da cerveja por ação das leveduras^{12,19}.

Podem ser identificados dois grupos de leveduras com características genómicas, fisiológicas e fermentativas distintas, as estirpes *ale* e *lager*. Estas diferem no tempo de fermentação, na floculação, grau de tolerância face ao *stress*, grau de influência organolética na cerveja, entre outros⁵. As leveduras do tipo *ale* são estirpes de *Saccharomyces cerevisiae*, apresentam uma grande diversidade genética e realizam fermentação a temperaturas mais elevadas, entre 18 – 25 °C, durante um curto período de tempo, concedendo diferentes

propriedades sensoriais às cervejas, nomeadamente, os aromas frutados^{5,45}. As leveduras do tipo *lager*, cuja nomenclatura atualmente aceite é *Saccharomyces pastorianus*, estima-se ser uma estirpe híbrida entre a *Saccharomyces carlsbergensis* e outra espécie do género *Saccharomyces*^{9,10}. Estas exibem um perfil de temperatura significativamente diferente das anteriores e realizam a fermentação mais lentamente, a temperaturas entre 7 – 15 °C, o que as torna adequadas para a realização de fermentação a frio⁵.

Estes microrganismos estão envolvidos em todas as etapas da produção da cerveja e um dos fenómenos de grande importância para a fermentação é a floculação da levedura. Este é um processo reversível, assexuado e dependente de um substrato de cálcio que consiste na formação de flocos pela aglomeração das células das leveduras e, enquanto que as leveduras *ale* após sofrerem este processo separam-se do meio e flutuam à superfície, as leveduras do tipo *lager* sedimentam-se no fundo da cuba de fermentação⁴⁶. Uma mudança nos padrões de floculação pode ter um efeito negativo no processo cervejeiro, por um lado, caso ocorra uma baixa percentagem de floculação o elevado conteúdo celular pode afetar a filtração da cerveja, por outro lado, a floculação antecipada das células das leveduras pode levar a concentrações residuais de extratos altas, diminuir o teor de etanol causando impacto na qualidade final do produto⁴⁷.

2.3 PROCESSO PRODUTIVO

O fabrico de cerveja é uma prática milenar considerada por muitos uma arte inegavelmente impulsionada pelo avanço da ciência, que abrange fundamentos químicos como o pH, o uso de estirpes de fungos para a realização da fermentação, a análise cinética de enzimas conduzida em laboratórios, métodos de análise estatísticas, entre outros conhecimentos e ferramentas que foram descobertos e aprimorados ao longo do tempo e que nos dias de hoje são indispensáveis para alcançar uma boa eficiência aquando da produção de cerveja¹⁸.

Apesar das bases teóricas do processo produtivo da cerveja terem sido aprofundadas nas últimas décadas, as práticas antigas mantiveram-se, começando pela moagem do malte de cereais, posteriormente misturado com água dando origem ao mosto que vai servir de substrato para a fermentação subsequente, contudo, este processo não é exclusivo, as características alusivas às diversas etapas (**Figura 4**) dependem do tipo de cerveja a produzir, sendo que divergem consideravelmente entre países e até mesmo entre cervejeiras^{19,23}.

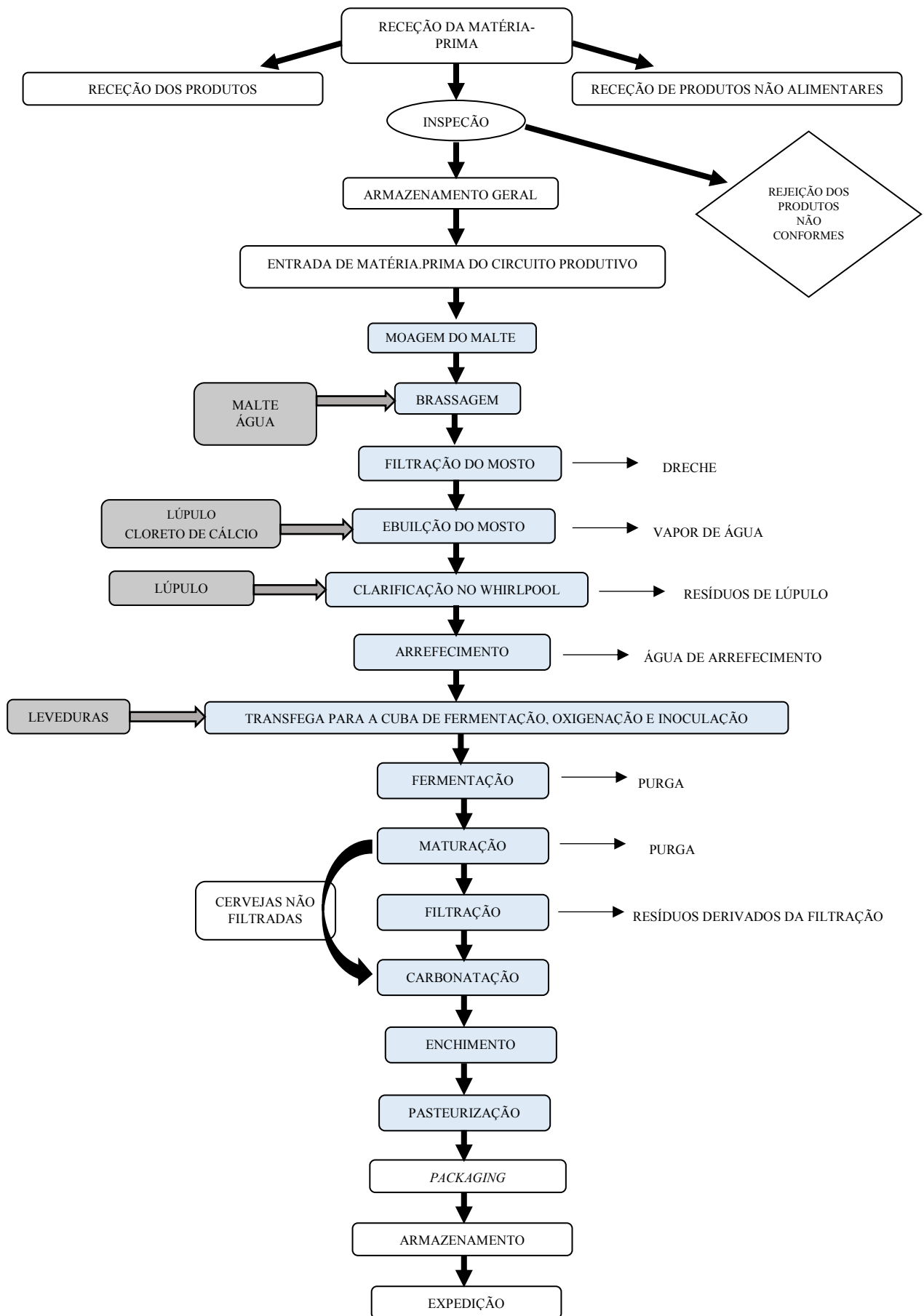


Figura 4 - Processo de fabrico da cerveja na empresa Essência D'Alma.

Para a produção eficiente de cerveja é necessário ter em atenção a qualidade das matérias-primas a utilizar, como o malte de cevada e/ou outros cereais, grãos não maltados, ingredientes opcionais denominados adjuntos, como o caso de açúcares e xaropes, lúpulos, água e leveduras.

A primeira etapa da produção (**Figura 4**) é a **moagem** do malte, obtido após a maceração, germinação e secagem dos grãos de cereais, esta é essencial para a qualidade do produto final. É nesta fase que se dá o aumento da superfície de contacto dos grãos de malte, o que vai potenciar uma melhor diluição e extração dos componentes necessários à ação das enzimas hidrolíticas presentes no malte. Portanto a moagem tem um impacto na eficiência das fases subsequentes, mais precisamente na brassagem e na separação do mosto^{8,12,48}. Este processo pode ser realizado através de diferentes equipamentos, como o moinho de martelos, em que os grãos são esmagados contra uma placa, ou o moinho de rolos, no qual os grãos são quebrados por ação de rolos. Ambos os processos podem ocorrer na presença ou ausência de humidade, esta última denominada por moagem a seco que é o método mais utilizado pelas cervejeiras⁵.

Diferentes tipos de grãos requerem diferentes estratégias de processamento mecânico e, tendo em conta que a composição do grão influencia as propriedades de filtração dos mesmos, o tipo e a configuração dos moinhos precisam de ser ajustados, pois a diminuição da porosidade do leito, resultante dos grãos demasiado moídos pode levar à compactação e formação de um leito impermeável não desejável na fase da filtração do mosto^{5,8,17,48}.

Em seguida, dá-se a etapa da **brassagem**, que consiste no processo de maceração do malte moído em água quente, com baixo teor de oxigénio dissolvido, que dá origem ao mosto^{48,49}. Assim, esta hidratação dos grãos permite a ativação das enzimas do malte que através de reações hidrolíticas vão converter os substratos presentes na mistura, tais como o amido, proteínas e outros componentes da parede celular, em açúcares fermentáveis, que vão ser posteriormente assimilados pelas leveduras durante a fermentação^{5,8,48}.

Entre todas as enzimas do complexo enzimático que atua da degradação do amido, que é o principal propósito desta etapa, podem ser destacadas a α -amílase e β -amílase. A α -amílase está ativa durante o processo de maltagem, mas em percentagens inferiores em relação à atividade que apresenta em amido gelatinizado ou solúvel e necessita de iões de cálcio como cofatores. Por outro lado, a β -amílase está presente durante a maltagem, mas não está ativa e, aquando da sua atividade, converte amilose e amilopectina em açúcares mais simples como a

maltose. À semelhança das α -amílases, necessitam de amido solúvel para que ocorra uma degradação mais eficiente⁴⁸. Portanto, a característica mais importante do amido para esta etapa é a sua gelatinização, isto é, adsorção de água que resulta na perda irreversível da estrutura cristalina do amido, para isto, este substrato tem de ser submetido a temperaturas que rondam os 60 °C⁴⁸.

Durante a brassagem, são realizados vários períodos de descanso com diferente duração e temperatura. Estas são escolhidas consoante o método a utilizar, infusão ou decocção, e a temperatura ótima das enzimas que vão atuar. Caso o método escolhido para esta fase seja a infusão, em primeiro lugar, a mistura do malte moído e água quente permanece durante 30 minutos a uma temperatura entre 45 – 50 °C para a realização da proteólise e degradação de β -glucanos. Após este tempo dá-se um aumento da temperatura na cuba de brassagem para valores entre os 62 - 65 °C para produção de maltose através da ação da β -amílase durante 30 a 45 minutos. Posteriormente, a temperatura volta a subir para 70 – 75 °C para permitir que ocorra o processo sacarificação em maior escala por ação das enzimas α -amílase, isto é, degradação do amido solúvel em dextrinas. Por último a temperatura sofre um incremento final para os 78 °C de modo a inativar as enzimas e a atividade enzimática⁴⁸. Por outro lado, no método de decocção ocorre a trasfega de parte da mistura da panela de brassagem para outro recipiente, no qual se dá um aumento da temperatura até à da fervura da mistura, posteriormente, este mosto quente retorna à panela inicial onde vai aquecer a outra parte da mistura remanescente. Comparativamente à infusão este é um processo mais dispendioso em termos de energia e custos⁴⁸.

Para além da temperatura, que tem um papel principal nesta fase, podem ser destacados outros dois fatores que afetam a atividade das amílases, são estes a proporção entre o malte moído, a água e o pH da mistura. Deste modo, para alcançar valores de pH ótimos para as diferentes enzimas podem ser utilizados sais de fermentação, como o cálcio e o zinco, no entanto, esta utilização tem de ser limitada, uma vez que estes podem afetar a fermentação⁸. Portanto, existem vários fatores que afetam diretamente a ação enzimática durante esta etapa e têm influência no teor alcoólico, retenção da espuma, cor e turbidez do produto final, sendo eles a temperatura da água, o pH, o tempo e a viscosidade da mistura^{5,48}.

Assim, a aplicação prática deste conhecimento por parte das cervejeiras permite o controlo dos diferentes fatores de modo a obter cervejas personalizadas com propriedades distintas adequadas ao seu gosto. Enquanto que, uma temperatura de brassagem mais baixa,

(menor ou igual a 65 °C) vai originar uma cerveja mais seca, com um teor de álcool mais elevado e com uma sensação de veludo na boca menos intensa, um mosto submetido a temperaturas iguais ou superiores a 68 °C, produz uma cerveja menos fermentável e mais doce⁸.

Na etapa da **filtração do mosto**, ocorre a separação dos resíduos sólidos insolúveis do mosto (dreche) através de um filtro de *lauter* ou um filtro de mistura⁴⁸. Durante esta etapa estes resíduos estão sujeitos a várias lavagens com água quente para extrair possíveis compostos de interesse que possam ter ficado agregados aos grãos de malte, a temperaturas inferiores a 80 °C, o que auxilia na diminuição da viscosidade da mistura, diminuindo o tempo de duração desta etapa^{5,19}. Concluída a filtração o subproduto formado por grãos de malte hidratados, uma vez que a secagem destes é um processo associado a um custo monetário elevado, podem ser utilizados como produto de interesse para a indústria agropecuária para alimentação de gado, para a produção de bioetanol, ácido láctico e xilitol, para a imobilização e absorção de metais pesados, entre outros⁵⁰.

A **ebulição** do mosto é a etapa mais dispendiosa e exigente termodinamicamente, e a mais complexa do processo produtivo durante a qual ocorre uma ampla gama de reações químicas, físico-químicas, físicas e bioquímicas^{18,48}. Os principais objetivos da fervura do mosto são a desnaturação e precipitação de complexos proteicos, fundamental para a retenção da espuma no produto final; extração e isomerização de α -ácidos dos lúpulos de amargor adicionados no início desta fase. Um fator importante para este ponto da fervura é a utilização de temperaturas altas para um rendimento mais elevado; esterilização do mosto; inativação de enzimas residuais que não foram eliminadas na fase final da brassagem; remoção de compostos aromáticos voláteis indesejáveis como o dimetilsulfureto (DMS) que potencia a formação de aromas e sabores desagradáveis na cerveja, evaporação da água; acidificação do substrato até pH 0,3 devido à adição de lúpulo, precipitação de fosfatos alcalinos, reação entre os íons de cálcio e magnésio com os fosfatos, entre outros; formação de compostos aromáticos e desenvolvimento de cor no mosto devido à formação de melanoidinas por reações de *Maillard*, caramelização dos açúcares residuais e oxidação de polifenóis^{5,18,48}.

No final da ebulição inicia-se a etapa de **clarificação** do mosto que ocorre num *whirlpool*, tanque utilizado para centrifugação do mosto, nesta dá-se a remoção dos resíduos de lúpulo e dos compostos insolúveis presentes no mosto. Por um lado, para garantir o sabor e a estabilidade coloidal da cerveja e, por outro lado, para evitar que influenciem o

metabolismo das leveduras e estimulem a sua sedimentação durante a etapa da fermentação. Assim como, para evitar que ocorra obstrução dos filtros, numa fase posterior, e dentro do permutador de placas utilizado para o rápido arrefecimento do mosto, em condições asséticas, de modo a minimizar o risco de contaminação pelo desenvolvimento de microrganismos indesejados^{12,19,23,48,51}.

Após a clarificação do mosto, este deve ser submetido a um sistema de arrefecimento até atingir uma temperatura ótima para a inoculação das leveduras, processo denominado por *pitching*, consoante o tipo de cerveja a produzir são utilizadas estirpes específicas de *Saccharomyces* (como descrito no ponto 2.2.4) que apresentam temperaturas ótimas diferentes, portanto, para a atividade das leveduras *ale* o mosto deve ser arrefecido até atingir valores entre 15 – 22 °C e para as *lager* entre 6 – 12 °C²³.

Antes de se iniciar a trasfega da mistura para o fermentador, o mosto inoculado deve ser arejado, pois durante a ebulição o oxigénio dissolvido (OD) presente no meio foi eliminado. Sendo um fator limitante ao crescimento celular, dado que as leveduras necessitam de oxigénio para sintetizar ácidos gordos insaturados e esteróis essenciais para a biossíntese da membrana celular, é fundamental proceder à injeção de oxigénio até à concentração de OD no meio estar entre 8-9 mg/L para ser suficiente para o metabolismo celular das leveduras^{8,12,23}.

O principal objetivo da **fermentação**, etapa da fulcral de todo o processo produtivo, é a produção de cerveja através de produtos derivados do metabolismo das leveduras, mais precisamente, o etanol e o dióxido de carbono²³. Numa fase inicial de adaptação das leveduras ao meio (fase *lag*) estas optam pela via aeróbia para produção de energia, posteriormente esta energia é gasta na fase exponencial onde ocorre o desenvolvimento celular através da conversão dos açúcares e consumo do oxigénio presentes no mosto. Aquando da escassez de OD no meio as leveduras enveredam pela via anaeróbia, isto é, pela via fermentativa, na qual decorre uma série de reações secundárias para obtenção de energia para o metabolismo celular (fase exponencial), nomeadamente a glicólise, conversão da glucose em piruvato, posteriormente, as moléculas de piruvato sofrem descarboxilação originando acetaldeído e CO₂, por sua vez, o acetaldeído é reduzido ocorrendo formação do etanol, o final desta fase ocorre aquando da conversão da maior parte dos açúcares residuais^{44,52}.

Uma fermentação controlada é fundamental para obtenção de uma cerveja com qualidade. Desta forma, existem algumas variáveis a ter em conta nesta etapa que podem ter

uma influência direta no produto final, como a viabilidade da levedura utilizada, a composição do mosto e a temperatura de fermentação. A quantidade de levedura a inocular depende da sua viabilidade, determinada através da contagem de células viáveis pelo método de coloração com azul de metileno. Uma dosagem comum varia entre as $15 - 20 \times 10^7$ ufc/mL. Pode ser utilizada levedura propagada, seca ou recuperada de outro fermentador, uma vez que, o teor alcoólico no final da fermentação não apresenta valores elevados, normalmente inferiores a 6 - 7% álcool por volume (ABV), portanto as leveduras do processo podem ser reutilizadas. Ao contrário das leveduras noutras formas, as leveduras secas para além de terem uma aplicação mais fácil e rápida, apresentam a vantagem de conservação por longos períodos de tempo^{8,17,53}.

A temperatura é um fator decisivo para a fermentação, quanto mais alta a temperatura menor a duração dos processos que ocorrem nesta etapa e maior a concentração de metabolitos secundários que podem ter efeitos negativos no produto. No caso de se querer uma fermentação mais rápida sem a produção destes produtos secundários pode ser aplicada pressão na cuba de fermentação para diminuir a taxa de crescimento das leveduras e, assim, restringir a formação destes metabolitos^{8,12}. As leveduras não conseguem sobreviver apenas da disponibilidade de açúcares presentes no mosto, estas necessitam de nitrogénio, aminoácidos e ácidos gordos, vitaminas e minerais. Normalmente o mosto é rico em nutrientes, mas apresenta um défice de zinco, desta forma, nesta fase é necessária a adição controlada de sulfato de zinco para estimular a viabilidade celular⁸.

A duração da fermentação não é fixa, pode variar consoante o tipo de cerveja a produzir, as estirpes utilizadas, os parâmetros e o perfil sensorial desejado no produto final^{17,48,54}. Terminada a esta etapa, a temperatura da cuba de fermentação é reduzida e a cerveja é colocada a frio durante um período superior a três dias para dar início à etapa de **maturação** da cerveja, durante a qual ocorre o desenvolvimento das propriedades sensoriais, consumo dos açúcares complexos residuais que não foram degradados na fase da fermentação, assim como a remoção de compostos aromáticos produzidos na fase anterior como o diacetilo e o acetaldeído, aprimoramento da estabilidade coloidal, estabilização e sedimentação das leveduras, e caso necessário, nesta fase as cervejeiras podem realizar um ajuste na cor e no amargor da cerveja através da adição de corantes e lúpulo^{8,12,48,52,54}.

No final da maturação e, consoante a sua finalidade, a cerveja pode ou não ser submetida a um processo de **filtração** para remoção dos flóculos de levedura e partículas

residuais que afetam a turbidez, de modo a obter um produto final límpido e estável. Depois desta etapa dá-se início ao processo de **carbonatação** da cerveja, que é facultativo, no entanto, como a produção de CO₂ pelo metabolismo celular pode não ser suficiente para conferir as características desejadas no produto, os cervejeiros podem optar por realizar um ajuste do nível de carbonatação^{12,54}. A cerveja filtrada e carbonatada permanece nas cubas até ao **enchimento** em diferentes tipos de vasilhame, tais como garrafas, latas ou barris e, posteriormente, o produto embalado é submetido a uma etapa final de **pasteurização**, a altas temperaturas durante um período de tempo específico, consoante o tipo de vasilhame (latas, garrafas ou barris), de modo a inativar possíveis células de leveduras ou outros organismos existentes na cerveja e, assim, evitar a refermentação^{17,54}. Sendo que, no caso dos barris objetivo é obter entre 8 a 9 unidades de pasteurização na cerveja pasteurizada, enquanto para garrafas os valores pretendidos rondam os 12 a 15 unidades de pasteurização, para tal utilizam-se diferentes métodos como a pasteurização *flash* para os barris, uma pasteurização mais lenta a 60 °C para garrafas de maior volume (75 cl) e uma pasteurização mais rápida a 61 °C para garrafas de menor volume (33 cl).

2.4 FILTRAÇÃO DA CERVEJA

A filtração ou clarificação é o processo de remoção de partículas suspensas existentes na cerveja após as etapas da fermentação e da maturação. Estas podem ser de origem biológica que consistem nas leveduras, bactérias e outros microrganismos, e resíduos não biológicos constituídos por complexos proteicos associados a polifenóis e outras moléculas como carboidratos, lípidos e iões metálicos^{55,56}. Este processo de clarificação da cerveja permite a obtenção de um produto com qualidade para o mercado, especialmente através do melhoramento das características organolépticas, nomeadamente a turbidez, garantindo a sua preservação e maior estabilidade do produto aquando do armazenamento^{5,57-59}. Esta deve ser realizada a baixas temperaturas, entre 0 – 2 °C, com injeção de CO₂ ou de *freshline* (mistura que contém 40% de CO₂ e 60% de N₂) como gás de contrapressão e com um controlo rigoroso para reduzir a incorporação de oxigénio durante esta etapa^{19,23,59}.

Os mecanismos de filtração podem ser classificados em dois tipos consoante o local de separação, filtração em profundidade e filtração de superfície⁵. A filtração em profundidade apresenta uma elevada taxa de remoção de partículas suspensas presentes na cerveja que ficam retidas no meio poroso dentro da matriz dos filtros, pois a estrutura complexa dos filtros permite a remoção de partículas de menor calibre, fator fundamental para uma filtração estéril,

exemplo desta é a filtração em cartuchos^{5,19,60}. A filtração de superfície consiste na retenção e acumulação das partículas suspensas na superfície de uma membrana porosa, sendo que, à medida que as partículas de maior calibre se depositam no filtro ocorre a formação de uma camada densa e compacta que restringe a filtração dos resíduos suspensos de menor tamanho, portanto, apesar do incremento da qualidade da cerveja, o fluxo e o volume de produto filtrado diminui ao longo do tempo de duração da filtração^{5,19,23,60}.

Consoante o tipo de cerveja a filtrar os cervejeiros podem optar entre vários tipos de membranas com tamanhos de poro diferentes. As membranas de microfiltração, processo de separação por membrana mais utilizado na indústria cervejeira, permitem uma retenção eficaz de partículas com 0,02 - 10 μm de tamanho. No entanto, outros mecanismos como a nanofitração e a ultrafiltração também são utilizados em operações secundárias⁶¹. Estas membranas podem ser compostas por materiais sintéticos poliméricos com alta porosidade como o polipropileno, poliácridamida, poliamida, polietileno; por materiais naturais à base de celulose; entre outros^{19,62}. Para além disto, podem ser utilizados auxiliares de filtração, que são materiais sólidos insolúveis, como o *kieselguhr* (KG) também designado por terras diatomáceas, material vulcânico como a perlite, ou as fibras de celulose que podem apresentar composição e dimensões variadas^{5,23}. Face à utilização destes processos de tecnologia de membranas, atualmente o uso de aditivos para promover a estabilidade da cerveja e a clarificação é quase ausente, uma vez que a filtração por membrana permite a obtenção de uma cerveja estável, estéril e límpida⁶¹.

A eficiência do processo de clarificação da cerveja encontra-se condicionada pelo comportamento de variáveis como a pressão transmembranar (ΔP), a área de filtração (A) e espessura do filtro (L), a viscosidade do fluido (μ) e o coeficiente de permeabilidade do meio (K_p) que por sua vez influenciam o caudal de filtração (Q), tal como demonstrado pela Lei de Darcy (**Equação 1**) que descreve o fluxo de líquidos através de um meio poroso⁶³.

$$Q = K_p \frac{\Delta P \times A}{\mu \times L} \quad (1)$$

Em suma, a filtração é fulcral para potenciar a estabilidade da cerveja a longo prazo, aumentando o tempo de prateleira do produto. A eficácia da filtração pode ser influenciada pela técnica escolhida, pelas variáveis do processo, pelo uso de auxiliares de filtração e pelas substâncias suspensas e dissolvidas na cerveja⁵.

2.4.1 Filtração por Terras diatomáceas

Grande parte do volume de cerveja filtrada consumida em todo o mundo advém do processo de clarificação através do uso de auxiliares de filtração. Entre todos, o auxiliar de filtração mais utilizado pela sua eficácia ao nível da estabilização coloidal do produto final e custo-benefício, é o *kieselguhr* também designado por terras diatomáceas, uma vez que é constituído por exoesqueletos de algas diatomáceas originárias de ecossistemas marinhos ou de água doce, compostos por 80 - 90% de sílica, são sedimentos orgânicos de cor clara que apresentam um elevado grau de porosidade, baixa condutividade térmica e baixa densidade o que resulta na suspensão dos mesmos num meio aquoso⁶⁴.

De acordo com Fillaudeau *et al.*, este método de filtração tem sido uma prática comum na indústria há mais de cem anos, principalmente pela sua natureza porosa que permite um fluxo contínuo e, simultaneamente, a retenção eficaz das partículas como os microrganismos, complexos proteicos precipitados, entre outros, onde as de maiores dimensões são captadas na superfície da membrana filtrante enquanto as partículas mais pequenas ficam retidas nos poros^{60,65}.

Estes sedimentos, também denominados pós de *kieselguhr*, necessitam de passar por um tratamento específico antes de estarem aptos a serem utilizados na indústria da fabricação de cerveja. Para tal este material fossilizado sofre processos consecutivos de secagem, a temperaturas variáveis, e moagem²³. Através da moagem podem ser obtidos sedimentos com diferentes calibres, desde grãos finos, que potenciam uma taxa de separação mais exata, mas promovem um fluxo de líquido menor tornando o processo mais demorado; a médios e grosseiros, que permitem um caudal de filtração maior. Todavia, a separação das partículas não é tão eficiente, logo a turbidez do produto filtrado é superior à observada na filtração com granulometria inferior^{23,66}.

Consoante o tipo de cerveja a filtrar e a concentração de sólidos em suspensão, as quantidades de terras diatomáceas de diferentes dimensões devem ser ajustadas tendo em conta o impacto do seu comportamento nas propriedades da cerveja filtrada, nomeadamente a turbidez. Assim, a dosagem de *kieselguhr* a usar para uma etapa de filtração pode variar entre 70 a 220 g por hectolitro de cerveja^{23,67}. Através da utilização de diferentes dosagens podem ser filtradas partículas com dimensões variadas, quer superiores a 1 µm (células de leveduras, microrganismos e proteínas precipitadas), inferiores a 1 µm (depósitos coloidais,

como por exemplo, proteínas, complexos proteicos formados com taninos e resinas de lúpulos) e inferiores a $0,001 \mu\text{m}$ (compostos orgânicos e iões)⁶⁶.

Neste tipo de filtração, com auxiliares no formato de pastas ou pós, o processo pode ser levado a cabo numa estrutura com diferentes tipos de filtros, sendo estes, filtros de placa, de folha (horizontais ou verticais) ou de vela, os últimos são os mais utilizados nas cervejeiras^{23,66,67}. Os filtros de vela (**Figura 5**) são estruturas em inox que apresentam uma disposição vertical e são constituídos por velas porosas dispostas numa placa horizontal, estas apresentam 20 - 35 mm de diâmetro e até 2,5 m de comprimento, que permitem uma separação de partículas movimentadas da interface exterior do filtro para o seu interior⁵.

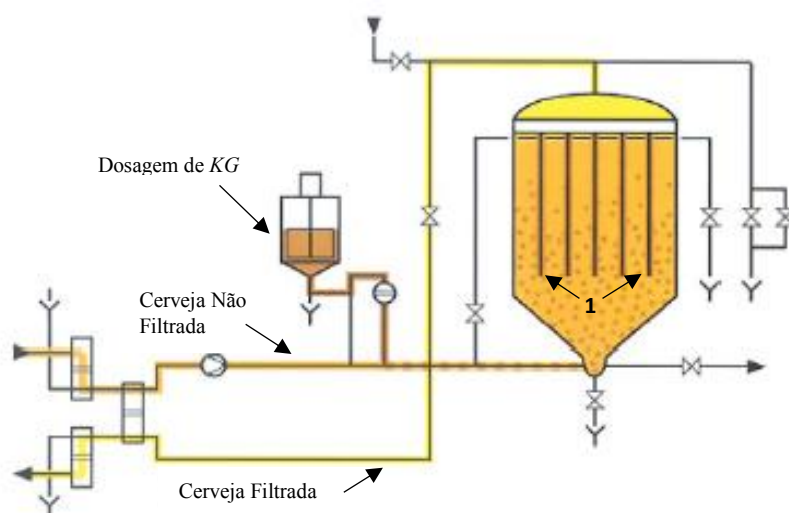


Figura 5 - Modelo representativo de um filtro de vela (1 - velas)⁵.

O método de filtração *KG* consiste numa etapa inicial de construção de pré-camadas, seguida da separação de partículas através da adição de uma camada contínua de auxiliares de filtração, posteriormente o filtro é esvaziado com a ajuda da água e a camada espessa formada durante a filtração, denominada bolo de filtração, é removida. Por fim, é feita a limpeza e desinfeção do filtro⁵.

A formação de pré-camadas é indispensável à viabilidade deste processo, uma vez que, é durante esta fase que ocorre o revestimento da superfície das velas que vai permitir a separação das partículas da cerveja na etapa seguinte, a primeira pré-camada é composta por terras diatomáceas de granulometria mais grosseira, que em conjunto com água ou, por vezes, cerveja, são bombeadas para o filtro de velas, para a formação da segunda pré-camada. O

método é semelhante ao anterior, no entanto, são utilizados sedimentos mais finos com maior porosidade, o que promove uma alta taxa de separação que vai definir o grau de turbidez da cerveja filtrada, construindo assim uma pré-camada, com 1,5 - 3 mm de espessura, esta etapa dá-se por concluída quando, após a recirculação da mistura, os sedimentos se encontram todos compactados e o líquido residual se encontra límpido, $< 0,5$ NTU^{5,23,68}.

De modo a alcançar uma melhor aderência da pré-camada ao filtro, assim como a estabilização mecânica do bolo de filtração para uma maior capacidade de resposta face a alterações bruscas de pressão e regeneração de zonas degradadas da camada filtrante, para obtenção de um bolo uniforme impedindo a passagem de partículas que possam causar turbidez, muitas vezes são adicionadas fibras de celulose como auxiliares suplementares à filtração por terras de diatomáceas⁶⁹.

Após os processos mencionados, a cerveja é bombeada para o filtro de velas e é adicionada uma nova dosagem de terras de diatomáceas, aproximadamente, 100 g por hectolitro de produto, estas vão constituir a camada contínua, que se acumula progressivamente sobre o bolo formado pelas pré-camadas renovando, constantemente, a superfície filtrante. É de notar que esta dosagem pode ser variável consoante o tipo de cerveja a ser filtrada^{23,67,70}. O fluxo de líquido provoca um aumento contínuo da pressão no filtro, portanto, a bebida deve ser bombeada a um fluxo constante evitando picos de pressão, 4,0 bar, que possam causar a queda das pré-camadas. Para uma filtração eficaz sem ocorrências indesejadas a pressão deve manter-se em valores próximos de 0,2 bar. Para além disso, a adição da camada contínua de KG pode provocar aumentos na pressão, portanto, a quantidade a usar deve ser controlada para que não ocorra um incremento abrupto e o gradiente de pressão do filtro se mantenha entre 0,2 - 0,3 bar^{5,19,23}.

A filtração através de auxiliares foi, durante muitos anos, a única opção viável para clarificação em grande escala de cerveja. Atualmente, a filtração a terras diatomáceas é aplicada de forma dominante no setor cervejeiro, pois é um método eficaz, relativamente simples, mais acessível a nível monetário, comparativamente a outros tipos de filtração, e que apresenta elevadas taxas de filtração devido à sua composição porosa, no entanto, apresenta problemas na área da saúde e do meio ambiente^{5,60}. A exposição e inalação prolongada ao pó de KG, que contém componentes cristalinos, nomeadamente sílica cristalina, também designada por cristobalite, em percentagens elevadas, pode causar doenças respiratórias,

assim como, cancro do pulmão, daí se encontrar classificado como agente cancerígeno para os humanos^{60,71}.

Para além disto, este processo apresenta também problemas a nível ambiental, uma vez que, os recursos de *KG* são limitados, é um material de difícil descarte com custos associados elevados associados à sua eliminação, devido ao facto de não poder ser utilizado como subproduto para alimentação animal, como acontece com a *dreche* e, por vezes, também com o excesso de levedura⁵. Hoje em dia, a procura por métodos alternativos na indústria cervejeira está a aumentar através do uso de auxiliares de filtração, como por exemplo, o gel de sílica ou a perlite, que é um material vulcânico que apresenta um risco baixo para a saúde, ainda assim, não é vastamente aconselhável devido à baixa densidade que faz com que se disperse facilmente no ar. Outra alternativa é o uso de outros métodos de separação como a filtração de fluxo cruzado (*crossflow*), contudo, esta ainda não se encontra otimizada para filtrações de volumes de cerveja a níveis semelhantes às terras diatomáceas e encontra-se associada a problemas de colmatação da membrana filtrante e instabilidade na qualidade dos produtos finais. Em relação ao manuseio e descarte das terras de diatomáceas residuais removidas após a filtração, existem estudos, relativamente recentes, que sugerem o seu uso para compostagem e, também, como aditivo para a indústria da construção^{5,72}.

2.4.2 Filtração por Cartuchos

Atualmente, uma das técnicas mais relevantes para alcançar uma filtração estéril na indústria cervejeira é através da utilização de filtros de cartuchos, constituídos por um filtro de membrana, que se baseia numa camada fina que se encontra dentro de uma estrutura de suporte, geralmente, com forma cilíndrica, e que permite uma elevada área de filtração grande num volume compactado⁶⁰. Este tipo de filtros possuem diferentes frações, tais como, uma membrana porosa, um núcleo interno, uma tampa de extremidade superior e *O-Rings* (zona de encaixe) e apresentam uma ampla gama de comprimentos e diâmetros, texturas e dimensões de poros disponíveis para utilização. Para além destes aspetos, os materiais fibrosos constituintes vão desde componentes sintéticos como o polipropileno, inorgânicos como as cerâmicas até aos de origem vegetal compostos por celulose^{62,73,74}.

Apesar da filtração *KG* alcançar a remoção da maior parte do volume de partículas suspensas, algumas partículas de dimensões menores podem permanecer na cerveja, como por

exemplo, bactérias. Desta forma, no final da passagem por estes filtros é colocado regularmente um filtro de cartucho com 0,45 μm antes da passagem da cerveja para a cuba de receção, com o intuito de reter qualquer material que se encontre em suspensão, quer microbiológico, como bactérias, quer partículas do filtro auxiliar, como sedimentos de terras diatomáceas, que possa ter atravessado o filtro⁶⁰.

Este tipo de filtração é impulsionado pelo gradiente de pressão existente entre os diferentes lados do filtro, o que permite o fluxo laminar de líquido através da membrana porosa filtrante, que permite a retenção das partículas suspensas⁷⁵. O diferencial de pressão encontra-se, por sua vez, dependente da dimensão de poro utilizada, da viscosidade do líquido e do coeficiente de fluxo e a sua utilização. Esta filtração apresenta várias vantagens, tais como, a obtenção de um maior fluxo de filtração (taxa de filtração por unidade de área), permite o uso de equipamentos de menores dimensões, visto que o elevado caudal é facilitado pelas propriedades finas da superfície filtrante associadas à alta porosidade da membrana, e simples manuseamento^{75,76}.

A dimensão das partículas suspensas removidas através deste mecanismo de filtração encontra-se na gama dos micrómetros (μm). Sendo que, as partículas que causam turbidez visível apresentam tamanhos entre 15 - 20 μm , logo pertencem à gama para as quais é utilizada a filtração a cartuchos, entre 0,006 - 250 μm ⁷⁵.

É fundamental ter em conta a dimensão das partículas indesejadas suspensas na cerveja, aquando da escolha do sistema de filtração a usar, uma vez que, a aplicação de um filtro com a dimensão de poro certa vai permitir que o processo ocorra de forma eficaz diminuindo possíveis custos adicionais que possam advir do uso inapropriado dos cartuchos⁷⁷. Ao contrário dos auxiliares de filtração que são descartados após a finalização de cada processo de filtração, os filtros de cartuchos apresentam um tempo de vida útil superior, pois podem ser reutilizados para diferentes etapas de filtração, este tempo de vida é variável consoante o tipo de cerveja a filtrar e os procedimentos de limpeza associados⁶⁰.

Existem dois tipos de eficiência através dos quais se pode classificar a taxa de retenção dos filtros a cartuchos, nominal e absoluta. A primeira representa a percentagem de retenção no filtro da quantidade mínima de partículas suspensas superiores à dimensão dos poros descrita, sendo que o grau de eficiência é específico para diferentes dimensões do material suspenso. Isto é, se o filtro de cartucho apresentar uma eficiência nominal de 70% a 10 μm

pelo menos 70% das partículas com a granulometria referida serão removidas com a utilização desse filtro.

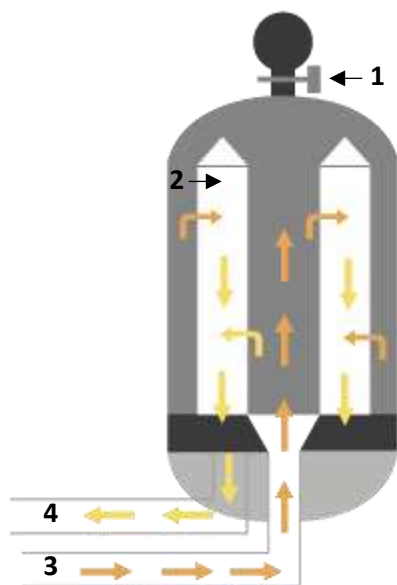


Figura 6 - Esquema representativo da filtração a cartuchos (1 - manômetro; 2 - cartucho; 3 - cerveja não filtrada; 4 - cerveja filtrada).

Quanto à classificação absoluta é referente a taxas de retenção superiores pela utilização de cartuchos que apresentam uma carga negativa que promove a retenção de partículas com uma eficiência superior a 99%^{62,77,78}. Em suma, a categorização dos filtros é nominal para cartuchos superiores a 1 μm e absoluta para cartuchos de dimensão de poro inferior a 1 μm ⁷⁸.

Os filtros de cartucho são instalados em sistemas cilíndricos de aço inoxidável designados por *housing* (**Figura 6**), que permite uma filtração mais rápida e simultânea através da incorporação de um ou mais cartuchos, de diferentes diâmetros de poro, dispostos paralelamente na vertical, este mecanismo baseia-se no fluxo da cerveja a filtrar, através do gradiente de pressão, pela membrana porosa que se encontra na superfície dos filtros. Primeiramente ocorre retenção do material suspenso de maior dimensão e, posteriormente, dá-se a remoção das partículas de tamanho inferior, por fim, o líquido filtrado desloca-se para a parte inferior do filtro, acabando por abandonar o sistema de *housing* para a cuba de receção de cerveja filtrada⁶². Uma das vantagens deste sistema é a possibilidade de permuta das unidades de filtração durante o decorrer do processo de clarificação, por exemplo para lavagem por obstrução da membrana^{62,67}.

2.5 OXIGÉNIO

O oxigénio é um fator problemático para a estabilidade sensorial ao longo do tempo de prateleira da cerveja e, dependendo da etapa do processo produtivo, pode ter um papel benéfico ou prejudicial na cerveja^{79,80}

Numa fase inicial da produção, o oxigénio é essencial para a eficácia da germinação dos embriões de cevada, durante a fermentação é indispensável ao metabolismo das leveduras para biossíntese de compostos da membrana celular e, para além disto, tem um papel fundamental na oxidação e polimerização dos compostos fenólicos, tornando-os insolúveis promovendo a obtenção de um produto com menor turbidez^{8,79}.

No entanto, a incorporação de oxigénio no mosto durante a fase da brassagem pode ter efeitos negativos nas características sensoriais, nomeadamente no sabor, da cerveja embalada, uma vez que, o OD no mosto pode levar à oxidação dos ácidos gordos insaturados promovendo a produção de compostos intermediários que potenciam o envelhecimento da cerveja. Esta oxidação pode ocorrer através da via não enzimática pela ação de espécies reativas de oxigénio (ROS) ou pela via enzimática através da ação catalisadora das enzimas lipoxigenases (LOX), desenvolvidas durante a fase da germinação do malte⁸¹. Apesar de vir a ser consumido nas fases subsequentes, a presença de OD no mosto provoca várias alterações, entre estas, a diminuição dos níveis de polifenóis, aumento da turbidez e mudanças de cor, diminuição da taxa de filtração do mosto na etapa de separação da dreche e diminuição do teor de tióis livres⁸².

A fase da aeração do mosto é fundamental, pois a disponibilidade de OD no meio é um fator condicionante ao crescimento celular das leveduras. Porém, a incorporação de O₂ deve ser realizada no mosto a aproximadamente 26°C, temperatura aceite para que não ocorram reações de oxidação, pois a adição de O₂ a um mosto quente vai desencadear reações químicas entre estas moléculas com os constituintes do mosto, causando a decomposição dos mesmos e a libertação de ROS⁸. A produção de radicais livres de oxigénio é um dos fatores primários na deterioração da cerveja, uma vez que promovem a produção de aldeídos e a degradação das iso-humulonas dos lúpulos, diminuindo o teor de antioxidantes do produto final tornando-o mais suscetível à oxidação e criando mudanças indesejadas a nível sensorial pelo desenvolvimento de *off-flavors*, como o aroma a maçã verde provocado pela produção de acetaldeído, na cerveja embalada^{79,80,83}.

Apesar de algumas estirpes de leveduras apresentarem tolerância a fermentações em cubas expostas ao ar, a introdução oxigênio após o início da primeira fase da fermentação pode levar à produção de compostos voláteis característicos do envelhecimento da cerveja, como por exemplo, o fenilacetaldéido, etilfenilacetato e o feniletilacetato responsáveis pelo sabor a papel/cartão^{8,83,84}.

A deterioração do sabor da cerveja embalada está diretamente relacionada com a oxidação, portanto, controlar e manter os valores de OD mais baixos quanto possível para reduzir a probabilidade de ocorrência de reações de oxidação é primordial para minorar os efeitos negativos no sabor, na estabilidade coloidal e conservar estas características durante o tempo de prateleira do produto^{84,85}. A medição da concentração de OD pode ser expressa em mg/L, em partes por milhão (ppm) e partes por bilhão (ppb)^{86,87}.

O teor padrão de OD (**Figura 7**) varia consoante as diferentes fases do processo de fabrico. No final da maturação a concentração de OD deve ser inferior a 0,01 mg/L, uma vez que, os sistemas de filtração em profundidade estão associados a uma elevada adição de oxigênio, estimulando a formação de ROS à cerveja. Durante o processo de separação de partículas devem ser tomadas medidas para minimizar a incorporação de O₂ tais como a utilização de água desarejada para a obtenção das pré-camadas aquando da filtração pelo método de *KG*; injeção de um gás de contrapressão e remoção do ar do sistema de tubagem a utilizar, sendo que no final da filtração o teor de OD deve localizar-se dentro do intervalo de 5 - 50 ppb^{19,23,67,83,87}. No caso da água utilizada não ser desarejada, o teor de OD na suspensão de *KG* é 10000 ppb, o que potencia um incremento de 100 ppb na concentração de OD da cerveja resultante da fase inicial de filtração apresentando valores, normalmente, entre 2000 – 3000 ppb que não permitem a estabilidade coloidal do produto, portanto, a aplicação da

dosagem de terras diatomáceas no filtro com a injeção de CO₂ ou *freshline* é um passo essencial para controlar e minimizar a incorporação de OD nesta etapa do processo produtivo⁵.

Valores referência dos níveis de oxigênio durante o processo de produção de cerveja industrial	
Mosto da cerveja	8 – 17+ ppm
Fermentação	< 10 ppb
Filtração	5 – 50 ppb
Cerveja após filtração	10 – 50 ppb
Cerveja na enchedora	10 – 30 ppb
Oxigênio dissolvido em embalagem (garrafa)	20 – 50 ppb
Oxigênio dissolvido em embalagem (lata)	30 – 60 ppb
Oxigênio total dissolvido em embalagem	40 – 150 ppb

Figura 7 - Valores padrão de OD para as várias etapas do processo produtivo da cerveja⁷⁰.

Atualmente, as cervejeiras que utilizam água desarejada e gases de contrapressão conseguem facilmente atingir valores de OD abaixo de 200 ppb nos produtos embalados, porém, em casos extremos podem recorrer a substâncias alternativas com propriedades antioxidantes para diminuir a concentração de OD, como por exemplo o ácido ascórbico, a vitamina C e o dióxido de enxofre⁸⁰. Para além disto, a escolha do tipo de vasilhame a utilizar para embalagem do produto final é muito importante, pois, existem vários fatores, para além do OD, que podem contribuir para a degradação de vários componentes da cerveja, causando a difusão de *off-flavors*, são estes a luz solar/UV, a temperatura e as condições de armazenamento⁸⁸.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são abordados, de forma detalhada, os sistemas de filtração utilizados na empresa Essência D'Alma, são estes a filtração por cartuchos e a filtração por terras de diatomáceas. Para além disto, é apresentado o aparelho utilizado para a medição do oxigénio dissolvido na cerveja antes e depois do processo de filtração e o material utilizado para as análises de rotina realizadas às cervejas que se encontram nas cubas de fermentação para seguimento e controlo do processo fermentativo.

3.1 SISTEMAS DE FILTRAÇÃO

Na empresa Essência D'Alma são utilizados 2 métodos para a realização da etapa da filtração da cerveja: a filtração com terras diatomáceas ou *KG* e a filtração por cartuchos. A escolha do sistema a utilizar varia consoante o volume de cerveja a filtrar e a turbidez inicial da mesma. Isto é, para a clarificação de grandes volumes (> 2000 L) de cerveja com valores relativamente baixos de turbidez ($\pm < 300$ NTU) opta-se pela filtração *KG*, enquanto, para a filtração de quantidades menores de cerveja (< 2000 L), sem limites estabelecidos de turbidez utiliza-se um sistema de filtração por cartuchos.

3.1.1 Cartuchos

Os cartuchos utilizados atualmente na empresa são fornecidos pela *Pall Corporation* e pertencem à gama *Nexis® T*, estes são maioritariamente constituídos por polipropileno, exceto nas zonas de encaixe no sistema de *housing* (**Figura 8**), os *O-Rings*, que podem variar entre borracha de etileno-propileno ou silicone, e possuem 743 mm de comprimento vertical e 60 mm de diâmetro dos *O-Rings*⁷⁴.



Figura 8 - Sistema de *housing* com 3 cartuchos utilizado na empresa.

Tendo em conta as características da cerveja a filtrar são utilizados um ou dois *housing's*, sendo que, para filtrações de cervejas do estilo, *Doppelbock* ou *Baltic Porter* utiliza-se um *housing* com 3 filtros de 5 μm , enquanto para cervejas do estilo *Pilsner* ou *American Pale Ale* são utilizados dois sistemas de *housing* com um filtro de 5 μm e três filtros de 1 μm , ambos podem ser absolutos (99,98%) ou nominais com elevada percentagem de permeabilidade (95%).

Nos sistemas de dois *housing's* o uso de filtros de 5 μm antes dos filtros de 1 μm tem como objetivo realizar uma retenção mais grosseira das partículas em suspensão de dimensões superiores à dimensão de poro do cartucho e evitar a compactação dos filtros de 1 μm . Apesar de, anteriormente, a *India Pale Ale* ser filtrada através de um sistema de dois *housing's*, atualmente, de modo a permitir uma melhor conservação dos compostos aromáticos dos lúpulos na cerveja filtrada, o método de filtração deste estilo de cerveja foi alterado para uma filtração através de um sistema de *housing* com 3 filtros de 5 μm .

Neste método de filtração é necessário o uso de contrapressão para que se dê o fluxo da cerveja da cuba de fermentação inicial para a cuba de receção atravessando o sistema de *housing*. Desta forma, antes de se iniciar o processo de filtração é injetado CO_2 ou *freshline* na cuba inicial para que se registre um aumento da pressão no manómetro da cuba até um intervalo de 1,5 - 2,0 bar. Por sua vez, na cuba de receção procede-se à abertura da válvula de

pressão para que a pressão diminua para valores entre 0,2 - 0,6 bar. Após alcançadas as pressões desejadas, os passadores das cubas ligados ao sistema de filtros são abertos lentamente para dar início à filtração da cerveja e a cuba onde o produto não filtrado se encontra continua a receber *freshline* para manter o gradiente de pressão estável até não existir mais fluxo e a cerveja filtrada ter passado inteiramente para a cuba de receção.

Para além do método de utilização de contrapressão nas cubas, na empresa, por vezes, a etapa da filtração é realizada com o auxílio de uma bomba de três bocas para movimentação da cerveja no circuito de filtração sem necessidade do uso de pressão, normalmente, este equipamento é disposto antes do sistema de *housing*, na extremidade inferior da cuba inicial que contém o volume de cerveja não filtrada.

No decorrer da filtração pode suceder uma interrupção do fluxo de cerveja e um decréscimo abrupto do gradiente de pressão para valores perto de 0 bar, o que indica que os filtros se encontram completamente compactados. Para contornar este problema é necessário parar a filtração e injetar CO₂ ou *freshline* para empurrar o volume de cerveja que se encontra no circuito para a cuba inicial. Quando se verifica a existência de bolhas de ar dentro do filtro retira-se o tubo do gás de contrapressão utilizado e, finalmente, procede-se à remoção dos cartuchos seguida da limpeza dos mesmos com o auxílio de água e detergente com especificidades próprias para utilização industrial.

3.1.2 Terras Diatomáceas

As terras diatomáceas adquiridas pela empresa são fornecidas pela empresa Ângelo Coimbra, S.A. Atualmente são utilizados apenas 3 tipos de terras (**Figura 9**), a *Celatom*[®] *FP3* que apresenta uma granulometria mais fina, a *Celatom*[®] *FW12* de granulometria médias e a *Celatom*[®] *FW50* composta por terras de dimensões superiores, mais grosseiras. Para além destas três principais, é utilizada também a *Randacel*[®] *200* uma terra à base de celulose de origem vegetal que atua no âmbito de conferir integridade estrutural às camadas⁸⁹.

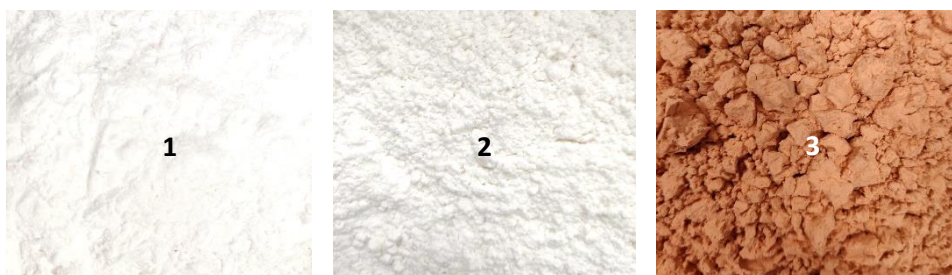


Figura 9 - Fotografias dos três tipos de terras utilizados na filtração (1 - FW50; 2 - FW12; 3 - FP3).

Este tipo de filtração é característico para grandes volumes de cerveja com baixa turbidez associada, na **Tabela 1** encontram-se descritas as características dos três tipos de terras da **Figura 9** utilizados na formação das diferentes camadas no filtro de velas para produção de uma membrana filtrante, nomeadamente, a granulometria e o diâmetro médio das partículas suspensas que serão retidas com a utilização do respetivo tipo de material.

Tabela 1 - Especificidades técnicas dos tipos de terras diatomáceas utilizadas na empresa^{90,91}.

	Variedades de <i>Kieselguhr</i>		
	<i>FW 12</i>	<i>FW 50</i>	<i>FP 3</i>
Origem	Diatomite de água doce	Diatomite de água doce	Diatomite de água doce
Estrutura	Calcinada	Calcinada	Calcinada
Cor	Branco rosado	Branco rosado	Amarelo-claro / Rosa
Análise granulométrica (µm)	6,6	22,8	3,5
Diâmetro médio das partículas (µm)	24,0	42,0	14,0

Na etapa de filtração de cerveja com auxiliares de filtração, são realizadas duas pré-camadas e, posteriormente, é adicionada uma dosagem contínua ao circuito. A determinação das quantidades de terras de diatomáceas a usar para as diferentes camadas foi estabelecida em estudos anteriores realizados na empresa, através de cálculos matemáticos com base na área das velas do filtro, tendo em conta que o principal objetivo da formação das pré-camadas é a deposição total da terra de diatomáceas nas 20 velas incorporadas no filtro adquirido pela empresa.

Desta forma, para a construção da primeira pré-camada são utilizadas terras constituídas na sua maioria por celulose (*Randacel*[®] 200) e terras grossas (*Celatom*[®] FW50). Para a formação da segunda pré-camada são utilizadas quantidades variadas das diferentes terras do tipo *Celatom*[®] e, durante a filtração para a dosagem da camada contínua, é usada uma proporção de terras de granulometria fina (*Celatom*[®] FP3) e média (*Celatom*[®] FW12) consoante o volume de cerveja a filtrar. Na **Tabela 2** estão descritas as respetivas doses de cada um dos diferentes tipos de materiais nas fases de incorporação das pré-camadas e na filtração. A quantidade de terra de diatomáceas utilizada nas pré-camadas é suficiente para uma filtração até um volume máximo estimado de 5000 L, acima deste, é necessário começar o processo de início com a formação de novas pré-camadas, pois quanto maior o volume, maior a retenção de partículas na membrana filtrante, o que faz incrementar a pressão do filtro que, por sua vez, leva à diminuição do rendimento da filtração.

Tabela 2 - Dosagem dos diferentes tipos de terras utilizadas na empresa para a formação das camadas na etapa de filtração.

Terras Diatomáceas	%	Celulose (Randacel) (kg)	Terra média (FW12) (kg)	Terra grossa (FW50) (kg)	Terra fina (FP3) (kg)
1° Pré-camada	11	0,0825			
	89			0,667	
2° Pré-camada	60			0,450	
	30		0,225		
	10				0,075
Camada contínua ¹	66		0,792		
	34				0,409

Nota¹: Quantidade utilizada para cada 1000L de cerveja a filtrar.

O filtro de KG apresenta vários componentes (**Figura 10**), sendo que os principais constituintes são, um compartimento para adição da terra de diatomáceas, um recipiente de filtração onde se encontram as velas, um tubo para entrada da água desarejada e da cerveja não filtrada, uma bomba no compartimento da terra de diatomáceas para agitação da mistura das mesmas com água, uma bomba para alimentação e outra para doseamento da cerveja no circuito e um tubo para saída da água e da cerveja filtrada, entre outras válvulas e manómetros para controlo do processo de filtração, como a válvula de passagem do produto utilizada para retirar uma amostra, aquando do início da filtração, para avaliar o teor de sólidos solúveis totais no produto filtrado, assim como, o seu grau de turbidez.

Para dar início ao processo de filtração *KG* deve ser verificada a limpeza do equipamento, de seguida, o circuito passa por uma etapa de desoxigenação na qual é injetado

freshline durante 5 - 10 minutos para remover o oxigênio e para prevenir a ocorrência de reações de oxidação, assegurando a conservação da estabilidade da cerveja filtrada.



Figura 10 - Filtro de terras diatomáceas da empresa (esquerda); Recolha da amostra de cerveja filtrada para análise dos parâmetros de turbidez e °Brix (direita).

A fase de formação da primeira pré-camada (**Figura 11**) inicia-se com o enchimento do filtro com água da rede, para remover o ar residual presente nas tubagens e encher o compartimento de mistura até cerca de 2/3 do seu volume, onde vai ser inserida, posteriormente, a terra de diatomáceas grosseira e a à base de celulose para recircular, continuamente, dentro do filtro de velas durante 15 - 20 minutos, ocorrendo a sua deposição nas velas. Após a incorporação da primeira pré-camada nas velas, dá-se início à formação da segunda pré-camada pelo mesmo método, apenas com a alteração do tipo de terra de diatomáceas adicionada ao circuito, que neste caso são as de granulometria média e grossa.

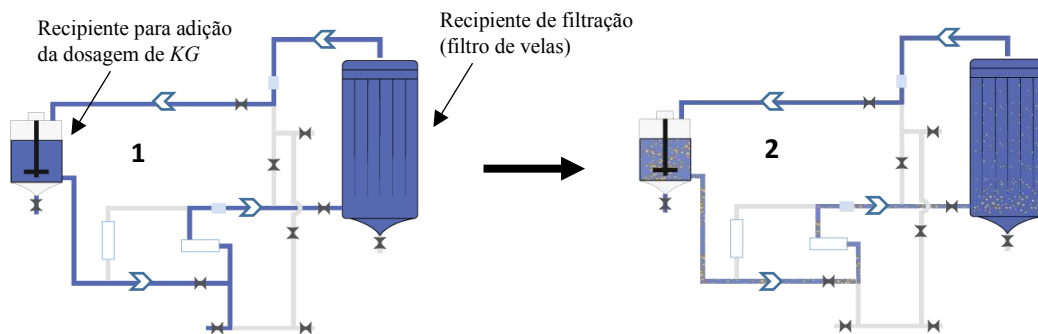


Figura 11 - Representação esquemática da etapa de formação das pré-camadas (1 - Enchimento do circuito com água; 2 - Adição e recirculação da terra de diatomáceas). Setas brancas representam o sentido do fluxo da terra de diatomáceas.

O início da filtração ocorre quando as velas estão completamente cobertas pela segunda pré-camada, através da circulação de cerveja pela abertura da válvula para entrada do produto não filtrado, presente na cuba inicial que se encontra interligada ao tubo de entrada do filtro. A decorrer ao mesmo tempo do fluxo de entrada de cerveja no filtro ocorre a remoção da água presente no circuito pelo tubo de saída. Durante esta fase são adicionadas as terras com agitação, no compartimento específico, para formação da camada contínua que vai renovar a camada porosa depositada nas velas permitindo assim a filtração da cerveja (**Figura 12**). A pressão durante um processo de filtração ótimo deve permanecer em valores superiores a 0 bar.

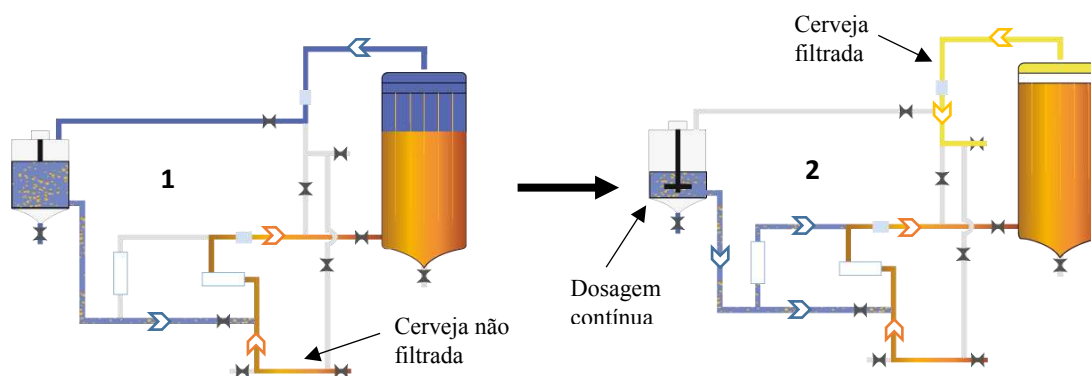


Figura 12 - Esquema representativo da adição e recirculação da camada contínua (1) e da filtração da cerveja (2). Setas brancas representam o fluxo do material (azul – dosagem contínua) e da cerveja (amarelo – cerveja filtrada; laranja – cerveja não filtrada).

Um dos cuidados fundamentais a ter durante a filtração é o controlo da subida da pressão. Se a pressão assinalada no manómetro atinge os 4 bar, isto indica que ocorreu compactação total do filtro, levando ao decréscimo visível do caudal de produto filtrado no

filtro. Caso este fenómeno se verifique é necessário suspender temporariamente a filtração da cerveja para remoção da camada de terras e formação de novas pré-camadas.

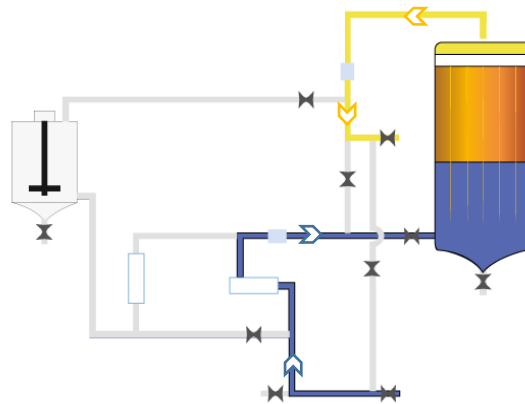


Figura 13 - Fase final da filtração a terras, na qual a passagem de água (azul) serve como auxiliar à passagem do volume total de cerveja filtrada (amarelo) para a cuba de receção. Setas representam o fluxo dos líquidos.

A duração da etapa de filtração pode variar com o volume a filtrar, o tipo de cerveja e a respetiva turbidez. No final da filtração (**Figura 13**) é ligado um tubo de injeção de *freshline* ao filtro e é realizada uma purga de todo o conteúdo existente no circuito, particularmente, cerveja e resíduos de terras. De seguida, o tubo de *freshline* é removido e há entrada de água quente para limpeza interna do filtro de terras, de modo a preparar a realização do método de limpeza *Cleaning-In-Place (CIP)* ao equipamento antes da filtração de uma nova cerveja.

Para todos os processos de filtração com terra de diatomáceas foi adotado um procedimento que se baseia na incorporação de um filtro de cartuchos de 5 μm no circuito, antes da cuba de receção, para prevenir a passagem de partículas de terras que se possam desagregar e incorporar na cerveja filtrada, caso existam falhas na camada filtrante.

3.2 MEDIÇÃO DO OXIGÉNIO DISSOLVIDO (OD)

Para a avaliação do OD na cerveja nas fases iniciais e finais da etapa da filtração, foi utilizado um aparelho portátil da marca *HACH*, o *Orbisphere 3100* (**Figura 14**). Este é adequado para o uso em meio industrial, quer em ambiente laboratorial, quer em zonas de produção. Efetua a medição do OD em unidades de ppb, numa gama de valores entre 0 - 2000 ppb, com um erro associado de $\pm 0,8$ ppb⁹².



Figura 14 - *Orbisphere 3100*, equipamento portátil para medição do OD na cerveja⁷³.

Este medidor tem integrado um sistema ótico avançado, denominado por tecnologia luminescente de oxigénio dissolvido (LDO) que permite uma medição mais rápida (em menos 15 s) do que outros tipos de sistemas, como sensores eletroquímicos, o que permite melhorar a eficiência deste processo e minimizar a quantidade de produto utilizada⁹². A tecnologia LDO é caracterizada pelo uso de um LED ativo de referência que irradia um pulso de luz azul que excita o local ativo de fluorescência, que por sua vez, imite um pulso de luz vermelha detetado através de um foto-díodo incorporado no sistema (**Figura 15**).

A presença de oxigénio, detetada através do contacto com o local ativo de luminescência, vai afetar os parâmetros de emissão de luz fluorescente como a taxa de decaimento da fluorescência, a intensidade e o tempo de duração do pulso de luz vermelha, sendo que, quanto maior a concentração de OD na amostra em análise menor a intensidade e a duração deste⁹².

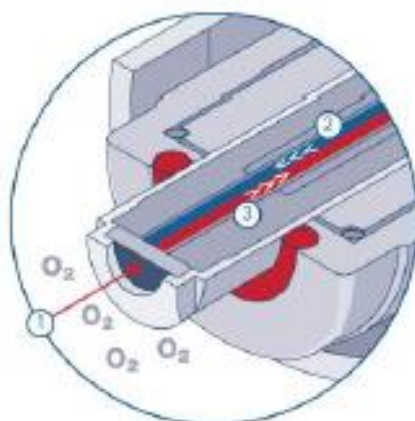


Figura 15 - Tecnologia LDO (1-local ativo de luminescência; 2-pulso de luz azul (excitação); 3-pulso luz vermelha (detecção))⁷⁴.

A medição dá-se num de sistema de fluxo único, através de um circuito por dois tubos de nylon ligados ao aparelho, sendo que um destes estabelece a ligação com a cuba, através de um adaptador de inox que encaixa numa das entradas livres da cuba para entrada do líquido a analisar e o outro permite o descarte do mesmo após a medição (**Figura 16**)^{92,93}. Preferencialmente, deve optar-se pela ligação do aparelho à torneira superior da cuba, de modo a evitar a entrada de resíduos como flóculos de leveduras e partículas de lúpulos depositados que possam obstruir o tubo e impedir a medição do OD na amostra de cerveja. Deve ser realizada uma purga durante alguns segundos antes de se dar início à leitura com o passador da cuba aberto, de modo a remover oxigénio residual que possa estar presente no circuito e alcançar uma medição estável. Para dar início à análise coloca-se o tubo de entrada de amostra no *Orbisphere 3100* na respetiva posição de medição, esta termina quando os valores de OD começam a estabilizar, uma vez que, o medidor não detém um valor exato final a análise deve ser feita tendo em conta a média entre os valores de OD nos quais a medição estabilizou.



Figura 16 - Esquema de montagem do medidor de OD à cuba de fermentação (1 - torneira/passador superior; 2 - adaptador de inox; 3 - tubo de entrada; 4 - tubo de descarte).

Foi realizada a medição do OD antes e depois do processo de filtração, por cartuchos ou por terra diatomáceas, para todas as cervejas filtradas da gama original (Loira, Rubi, Preta), da gama harmonização (Extra, Nautika, Orgânica, Thartaruga) e, também, para uma cerveja de arroz desenvolvida este ano na empresa, a *Rice Lager*.

Aquando do registo dos valores obtidos de OD, foram realizados controlos a outros parâmetros da cerveja, tais como a determinação do pH (potenciometria) através de um eletrodo de pH digital, a análise do teor de sólidos solúveis totais, por °Brix, através da utilização de um refratómetro digital portátil e a avaliação da turbidez com o auxílio de um turbidímetro (**Figura 17**)⁹⁴⁻⁹⁶. Todos os aparelhos utilizados devem ser calibrados regularmente, de modo a evitar erros de leitura.

No que diz respeito à medição da turbidez, esta permite avaliar a eficácia do processo de clarificação e assegurar que este parâmetro organolético da cerveja se encontra na gama de valores estabelecidos para o estilo de cerveja a filtrar. À exceção do turbidímetro utilizado, maioritariamente, na etapa da filtração, o refratómetro e o medidor de pH são utilizados durante outras etapas da produção, principalmente na fermentação para o seguimento do processo fermentativo do mosto nas cubas.

A medição do °Brix é realizada com o auxílio do refratômetro HI96813 da *Hanna Instruments*. Esta análise permite avaliar o rendimento da fermentação, pois à medida que os açúcares são consumidos, o teor alcoólico do meio aumenta, portanto, à medida que os valores de °Brix diminuem o volume de álcool aumenta. Assim que se atinge o volume alcoólico pretendido, procede-se à diminuição da temperatura (para 4 °C) da cuba de fermentação para cessar o processo e iniciar a etapa de maturação.

Para além disso, durante a fermentação é realizada, diariamente, a monitorização do pH do meio, através do aparelho de medição HI-2020 da *Hanna Instruments*, de modo a assegurar que este se encontra na gama de valores ótimos para a atividade das leveduras.



Figura 17 - Imagem representativa dos modelos de aparelhos utilizados na empresa para avaliação dos parâmetros da cerveja, refratômetro - aparelho HI96813 da *Hanna Instruments* (esquerda), medidor pH – aparelho HI-2020 da *Hanna Instruments* (meio) e turbidímetro – aparelho 2100 Q da *Hach* (direita)⁹³⁻⁹⁵.

Este controlo ao °Brix e à turbidez durante a etapa de filtração tem como princípio a monitorização das características da cerveja, nomeadamente, o teor alcoólico e a cor/limpidez. No caso da filtração por terra de diatomáceas, é estritamente necessária uma medição do °Brix aquando do início da filtração, pois este tem tendência a diminuir devido ao contacto da cerveja a filtrar com a mistura formada pela água e pela terra de diatomáceas. Desta forma, é realizada uma medição do teor de sólidos solúveis totais à saída do sistema de filtração para averiguar se ocorreu diluição e, caso esta se verifique, procede-se a um ajuste no fluxo da mistura de terra de diatomáceas de modo assegurar que o teor alcoólico da cerveja se mantém dentro dos valores desejados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para este estudo foram realizadas medições ao teor de oxigênio dissolvido (OD) nas cervejas, antes e depois da etapa de filtração das cervejas produzidas na empresa durante o período de estágio, Loira (*German Pilsner*), Rubi (*Märzen*), Arroz (*Rice Lager*), Preta (*Dark Lager*), Extra (*Dopplbock*), Nautika (*Baltic Porter*), Orgânica (*American Pale Ale*) e Thartaruga (*India Pale Ale*) e, para análise, considerou-se a média entre os dois valores em que o medidor de OD estabilizou.

Na **Tabela 3**, encontram-se descritos os lotes das cervejas filtradas e o tipo de filtração realizada para cada.

Tabela 3 - Tipos de cervejas, respetivos lotes associados, o tipo de filtração efetuada e o volume aproximado de cerveja do lote a filtrar.

Tipo de Cerveja	Lotes	Tipo de Filtração	Volume (L)
Rubi	C077SL	Terras Diatomáceas	1880
Extra	C079EX	Cartuchos	1950
Preta	C078LP	Cartuchos	2100
Orgânica	D005APA	Cartuchos	870
Extra	D004EX	Cartuchos	1980
Loira	D006LL	Cartuchos	930
Thartaruga	D007IPA	Cartuchos	2020
Loira	D009LL	Terras Diatomáceas	2050
Rubi	D010SL	Terras Diatomáceas	1950
Loira	D015LL	Terras Diatomáceas	1950
Arroz	D013RL	Cartuchos	960
Loira	D018LL	Terras Diatomáceas	1750
Extra	D024EX	Cartuchos	1950
Thartaruga	D025IPA	Terras Diatomáceas	900
Loira	D022LL	Terras Diatomáceas	2000
Nautika	D026BP	Cartuchos	600
Preta	D033LP	Cartuchos	950
Loira	D031LL	Terras Diatomáceas	1950
Orgânica	D030BIO	Terras Diatomáceas	1500
Arroz	D038RL	Cartuchos	935
Loira	D045LL	Cartuchos	985
Preta	D050LP	Cartuchos	1000

Como pode ser observado, para alguns tipos de cerveja foram realizados diferentes métodos de clarificação consoante a quantidade de cerveja. Para o caso da Loira, da Orgânica e da IPA, para os lotes D005APA, D006LL como o volume de cerveja a filtrar era inferior a 1000L optou-se pela filtração por cartuchos, pois é mais rentável para baixas quantidades de cerveja. No caso do lote D007IPA, apesar da quantidade ser cerca de 2000 L, dado a

inexistência de outra cerveja com as características necessárias para filtração *KG* nomeadamente a baixa turbidez associada, disponível para filtrar na mesma altura para compensar os gastos da filtração a terras diatomáceas, escolheu-se filtrar a cartuchos.

No caso das cervejas filtradas por cartuchos, os diâmetros de poro utilizados foram variados, tendo em conta as características desejadas no produto final. Na **Tabela 4** podem ser observados os *housing's* e cartuchos utilizados para a filtração das cervejas em estudo.

Tabela 4 - Tipos de cervejas filtradas por cartuchos e os respetivos *housing's* utilizados.

Tipo de Cerveja	Lotes	Tipo de Filtração	Housing
Extra	C079EX	Cartuchos	3 x 5 μm
Preta	C078LP	Cartuchos	3 x 5 μm
Orgânica	D005APA	Cartuchos	5 μm + 3 x 1 μm
Extra	D004EX	Cartuchos	3 x 5 μm
Loira	D006LL	Cartuchos	5 μm + 3 x 1 μm
Thartaruga	D007IPA	Cartuchos	5 μm + 3 x 1 μm
Arroz	D013RL	Cartuchos	5 μm + 3 x 1 μm
Extra	D024EX	Cartuchos	3 x 5 μm
Nautika	D026BP	Cartuchos	3 x 5 μm
Preta	D033LP	Cartuchos	3 x 5 μm
Rice	D038RL	Cartuchos	5 μm + 3 x 1 μm
Loira	D045LL	Cartuchos	5 μm + 3 x 1 μm
Preta	D050LP	Cartuchos	3 x 5 μm

De acordo com os valores obtidos pela medição da concentração de oxigénio dissolvido nos lotes de cerveja expressos na **Tabela 5**, exibida no **Anexo 1**, podemos observar que, na generalidade, os valores de OD medidos nas cervejas submetidas a filtração por cartuchos quer antes, quer após, se encontram dentro na gama de 5 - 50 ppb, considerada pela bibliografia como o intervalo que compreende os valores ótimos de oxigénio dissolvido na cerveja no final da filtração. Acima do teor máximo desejado (50 ppb) o oxigénio presente na cerveja pode ter repercussões graves na estabilidade do produto final embalado^{19,83}.

Na maioria dos lotes de cerveja em estudo, filtrados por cartucho, verificou-se um decréscimo da concentração de OD. Tendo em conta a análise do gráfico (**Figura 18**) podemos constatar que apenas três dos lotes de cerveja filtrada a cartuchos (D006LL, D013RL, D045LL) apresentam valores de OD após a filtração superiores a 50 ppb, principalmente o D013RL e o D006LL cuja medição revelou, respetivamente, um teor superior a 160 ppb e 80 ppb, sendo a causa mais provável associada a esta subida abrupta a presença de O₂ na cuba de receção da cerveja filtrada, apesar de ter sido dada pressão à cuba com CO₂ e *freshline* esta

pode não ter sido suficiente para remover a quantidade total de oxigênio presente. Para além disto, outra causa menos provável, mas não descartável, pode ser a existência de fugas nas mangueiras utilizadas durante a filtração, para ligação dos sistemas de *housing* às cubas.

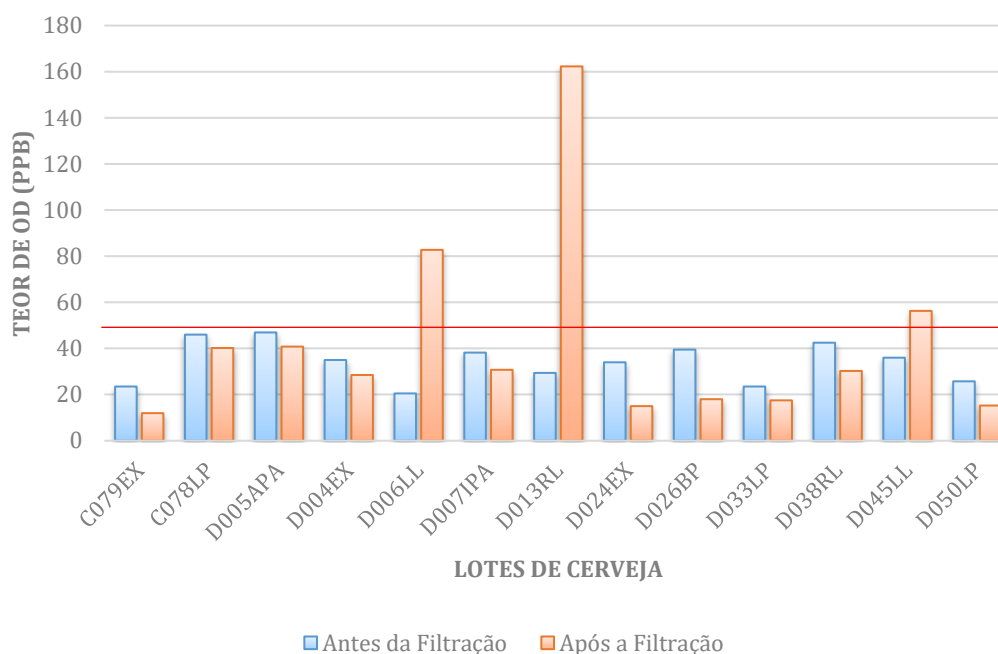


Figura 18 - Teor de oxigênio dissolvido nas cervejas filtradas a cartuchos. Linha vermelha representa o teor de OD recomendado (50 ppb).

Relativamente, às medições do teor de OD na filtração a terras de diatomáceas, os valores encontram-se detalhados na **Tabela 6**, presente no **Anexo 1**. Através da análise do gráfico (**Figura 19**) podemos verificar que os valores obtidos após a filtração foram drasticamente mais elevados comparativamente aos valores anteriores à filtração, para todos os casos. Pela observação do gráfico, nenhum destes valores obtidos se encontra dentro do intervalo ótimo, abaixo dos 50 ppb. Considerando o caso dos lotes D018LL, D025IPA e D010SL que apresentaram medições posteriores mais discrepantes, 267, 215 e 213 ppb, respetivamente, podemos concluir que o teor de OD captado durante a filtração com recurso a terra de diatomáceas ocorre a um nível muito superior ao da filtração a cartuchos. Mesmo no caso onde houve incorporação de OD na cerveja quando se utilizou a filtração por cartuchos (lote D013RL), verificou-se um aumento do nível de OD inferior (aproximadamente 130 ppb) ao verificado para o caso da filtração por terra de diatomáceas.

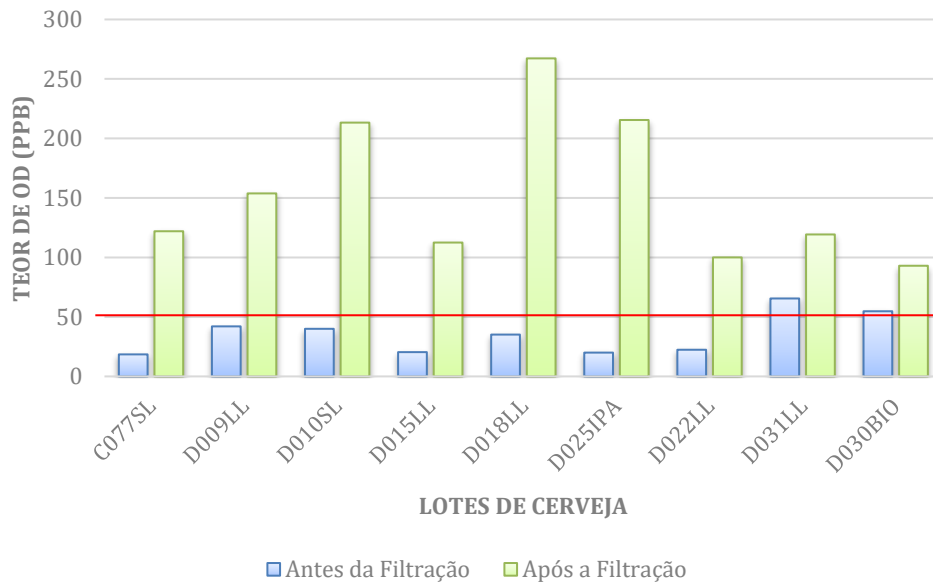


Figura 19 - Teor de OD nas cervejas filtradas a terras diatomáceas. Linha vermelha representa o valor ótimo de OD (50 ppb).

Apesar das causas destacadas para o incremento do teor de OD na filtração a cartuchos também poderem estar interligadas ao aumento observado nos valores medidos na filtração a terras, as causas mais prováveis a este considerável aumento do OD na cerveja filtrada, são o uso de água no filtro para preparação das pré-camadas e, posteriormente, para empurrar o volume de cerveja residual que permaneceu no filtro após a filtração, pois este contacto entre os dois líquidos potencia a incorporação de O₂ na cerveja. Para além disto, durante a adição da camada contínua de terras para filtração da cerveja é necessária a abertura do compartimento, apesar da injeção contínua de *freshline* ou CO₂, este passo expõe a mistura de terras e cerveja ao ar, aumentando a área de superfície para dissolução de oxigénio.

A diferença entre os dois tipos de filtração pode ser mais facilmente analisada através da avaliação dos valores medidos para lotes do mesmo tipo de cerveja, filtrados através de diferentes métodos, como pode ser observado no gráfico da **Figura 20**, onde estão demonstrados vários lotes correspondentes a três tipos de cerveja, Loira (LL), Thartaruga (IPA) e Orgânica (BIO e APA). A menor diferença foi registada nas medições da cerveja Orgânica, onde houve um aumento de apenas 44,2 ppb entre o lote D005APA filtrado a cartuchos e o lote D030BIO filtrado a terras, enquanto no caso da cerveja Thartaruga observou-se um aumento de 184,75 ppb entre o lote D007IPA filtrado a cartuchos e o lote D025IPA filtrado a terra de diatomáceas.

Na cerveja Loira foi registada a maior diferença entre as medições, 211 ppb, principalmente entre o lote D045LL filtrado a cartuchos e o lote D018LL filtrado a cartuchos. Desta forma, o lote D018LL, após embalamento e pasteurização que vai potenciar a ocorrência

de reações de oxidação devido às temperaturas elevadas a que o produto é submetido. Apresentará um maior grau de oxidação e, por sua vez, o envelhecimento vai ocorrer numa escala mais acelerada devido às reações de oxidação, levando à formação do sabor a papel/cartão do produto final embalado numa fase mais antecipada comparativamente à cerveja embalada do lote D045LL^{83,84}. Portanto, tendo em conta o ponto anterior, é possível concluir que, para as mesmas cervejas o método escolhido para realizar a etapa de filtração vai ter um papel fundamental na conservação das características sensoriais dentro dos parâmetros estabelecidos para o produto final.

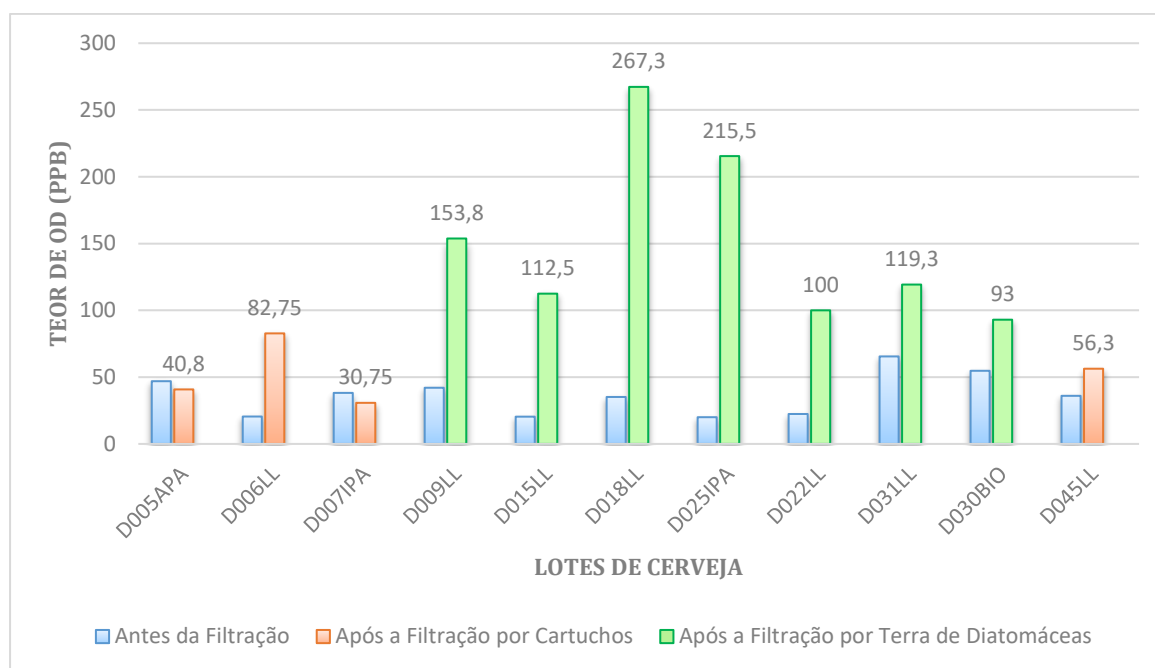


Figura 20 - Análise comparativa da influência de diferentes métodos de filtração no mesmo tipo de cerveja. (Cerveja Loira: D006LL, D009LL, D015LL, D018LL, D022LL, D031LL e D045LL; Cerveja Thartaruga: D007IPA e D025IPA; Cerveja Orgânica: D005APA e D030BIO).

Face à análise anterior é possível afirmar que a filtração por terras de diatomáceas é mais desfavorável à estabilidade do produto final que a filtração a cartuchos, pois apesar de se verificar nalguns casos a incorporação de OD na cerveja após a filtração por cartuchos este aumento é substancialmente menor que os incrementos observados nos lotes filtrados pelo outro método testado e ainda que, na maioria dos casos, o OD presente na cerveja filtrada encontrava-se dentro de valores aceitáveis.

No entanto, existe ainda a possibilidade da cerveja sofrer um aumento no teor de OD superior ao tabelado através da filtração a cartuchos, pois pode ocorrer contacto da cerveja com o oxigénio através de fugas nas válvulas do circuito, nos vedantes das bombas de três

bicos e, também nas mangueiras, para além disso, pode existir oxigénio residual nas tubagens e na cuba de receção da cerveja filtrada⁸⁶. A exposição ao oxigénio por estes meios também pode ser uma das causas da incorporação de oxigénio na cerveja filtrada pelo método de filtração a terras diatomáceas, mas não é suficiente para fundamentar o aumento abrupto que se observou comparativamente à filtração a cartuchos, portanto este deve-se a procedimentos específicos da filtração pelo método de terra de diatomáceas.

A principal causa da incorporação de oxigénio durante a filtração por este método é a exposição ao ar através de dois procedimentos, como a utilização de água com oxigénio dissolvido em várias fases da filtração, como é o caso do enchimento do filtro para preparação das pré-camadas e para movimentação do fluxo de cerveja; e a abertura da tampa do compartimento para adição das terras que vão formar a camada contínua do filtro de velas, o que permite a entrada de ar na mistura.

Comparativamente à filtração por cartuchos, a filtração a terra diatomáceas é mais apreciada na indústria cervejeira, especialmente em pequenas cervejeiras artesanais, pois apresenta um custo associado menor que os filtros a cartuchos, permite a obtenção de um produto filtrado com uma turbidez inferior apreciada pelos consumidores, devido ao baixo *cutoff* da membrana do filtro de velas formada pelas camadas de terras, assim como, exhibe um maior rendimento, uma vez que, através deste método, é possível filtrar volumes maiores de cerveja em menos tempo. No entanto, como comprovado pelos resultados anteriores, podemos concluir que, durante a filtração a terras há uma maior incorporação de oxigénio na cerveja, portanto, este método deve ser evitado para manter a estabilidade da cerveja filtrada, principalmente para cervejas que possam ser expostas a condições de armazenamento que possam potenciar as reações de oxidação.

Outro aspeto relevante é que nesta etapa da produção e especialmente no caso da filtração por terras de diatomáceas, mais suscetível à incorporação de oxigénio, devem ser implementadas medidas para minimizar a exposição da cerveja filtrada ao ar e medidas de controlo, de modo a perceber para cada cerveja e para ambos os tipos de filtração em que locais dos sistemas se dá uma maior incorporação do oxigénio. Estas medidas de controlo podem assentar no estabelecimento de novos pontos de medição do oxigénio como por exemplo a leitura dos valores de OD durante a totalidade da etapa de filtração, para ambos os métodos e a medição do teor de OD à saída do compartimento de mistura da terra de diatomáceas, à saída do recipiente do filtro de velas e à saída do sistema de filtração no

passador de saída da cerveja filtrada. Para além disso, deve ser realizada uma manutenção regular à tubagem e aos equipamentos utilizados para verificar a existência de fugas que permitam a entrada de ar.

Uma medida essencial para eliminação do oxigénio dissolvido incorporado durante a etapa de filtração é a carbonatação da cerveja filtrada. No entanto, esta medida é facultativa, isto é, muitos cervejeiros optam por excluir esta etapa e comercializar a sua cerveja apenas com o CO₂ natural resultante da fermentação. Porém, principalmente para cervejas filtradas por terra de diatomáceas que apresentam um maior potencial de oxidação este procedimento de injeção de CO₂ na cuba leva ao preenchimento da câmara de ar da cuba, ou seja, espaço vazio formado na zona superior da cuba, onde pode existir oxigénio residual minimizando os danos a longo prazo provocados pelo OD na cerveja.

Algumas medidas de mitigação já se encontram em vigor na empresa, no entanto, é necessário implementar um controlo mais rígido sobre estas. Exemplos destas medidas são a utilização de água quente desarejada e gases de contrapressão como o CO₂ e *freshline* para a remoção do oxigénio presente na tubagem, nos equipamentos a utilizar, como por exemplo o filtro de terra de diatomáceas e o sistema de *housing*, e nas cubas de receção da cerveja filtrada antes do início da filtração.

Para além disto, no caso da filtração por terra de diatomáceas é crucial a monitorização contínua da injeção de CO₂ ou *freshline* no compartimento de adição da camada contínua e, uma medida a implementar seria a adaptação do recipiente de doseamento da terra de diatomáceas, para que a abertura da tampa seja menor, assim a diminuição da superfície exposta ao ar levaria a uma menor dissolução de oxigénio na cerveja aquando da filtração⁸⁶. Adicionalmente, é necessária a monitorização da temperatura ao longo deste processo, pois este fator tem um papel ativo no aumento da velocidade das reações de oxidação, desta forma, esta deve ser controlada durante as fases posteriores à filtração para minimizar o risco do aumento das reações de oxidação e causar instabilidade no produto⁸³.

Em suma, a monitorização da incorporação de oxigénio na cerveja na etapa da filtração é fundamental para garantir que o produto embalado se encontra dentro dos parâmetros estabelecidos e mitigar as alterações que podem ocorrer ao nível sensorial na cerveja embalada e que levam à diminuição do tempo de vida do produto.

5 CONCLUSÃO

O principal objetivo da realização deste trabalho foi a identificação das principais formas de incorporação do oxigénio durante a etapa da filtração da cerveja, para implementar medidas de controlo e mitigação nesta fase do processo produtivo. No decorrer do estágio foram acompanhados os dois sistemas de filtração utilizados na empresa: a filtração por cartuchos e a filtração por terra de diatomáceas, aplicadas às cervejas produzidas nesse período. Para tal, realizaram-se medições à concentração de oxigénio dissolvido nas cervejas filtradas antes e depois desta etapa.

Através da análise dos resultados, antes e depois da filtração, concluiu-se que a realização da filtração por terra de diatomáceas é o método que mais incorpora mais oxigénio dissolvido na cerveja. Todos os resultados da concentração de oxigénio dissolvido após este tipo de filtração foram superiores aos verificados antes desta etapa e excederam o valor estabelecido para a quantidade de oxigénio dissolvido na cerveja embalada, 50 ppb. Apesar da maioria dos valores finais da concentração de oxigénio dissolvido da cerveja filtrada por cartuchos serem menores que os iniciais antes da filtração existiram ainda alguns valores superiores, e foram relativamente poucos os casos em que na filtração por cartuchos se verificaram valores excessivos, portanto, a monitorização deste tipo de filtração não deve ser descartada.

Desta forma, concluiu-se que a adoção de medidas para minimização do *input* de oxigénio é fundamental para que todas as cervejas filtradas se encontrem dentro dos valores ótimos de OD e este não afete a estabilidade e o tempo de vida do produto final, uma vez que, a oxidação da cerveja acelera o processo de envelhecimento da cerveja e leva à produção de *off-flavors* na cerveja embalada. Exemplos de medidas de controlo a adotar para a filtração por terra de diatomáceas passam pela medição contínua do teor de oxigénio à saída do recipiente de mistura da terra de diatomáceas; à saída do compartimento do filtro de velas; e à saída do sistema de filtração a terra de diatomáceas durante a etapa de filtração; para além disso, deve ser realizada uma verificação e manutenção regular dos equipamentos utilizados nessa etapa do processo produtivo.

Trabalhos futuros podem ter por base a avaliação do papel da etapa de carbonatação no oxigénio incorporado durante a fase de filtração, assim como, a análise de alternativas emergentes à filtração por terra de diatomáceas para o setor da indústria cervejeira.

REFERÊNCIAS

1. Meussdoerffer, F. G. A Comprehensive History of Beer Brewing. in *Handbook of Brewing* (ed. Elinger, H. M.) 1–42 (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009).
2. Pires, E. & Brányik, T. *Biochemistry of Beer Fermentation*. (Springer International Publishing, 2015).
3. Cerveja Vadia. Sobre a Cerveja Vadia. <https://www.cervejavadia.pt/pt/sobre-nos/#1> (2021).
4. Humia, B. V. *et al.* Beer Molecules and Its Sensory and Biological Properties: A Review. *Molecules* **24**, 1568 (2019).
5. EBlinger, H. M. *Handbook of brewing: processes, technology, markets*. (Wiley-VCH, 2009).
6. World Health Organization. *Global status report on alcohol and health 2018*. (World Health Organization, 2018).
7. Diário da República n.º 2/1996 - I Série B. *Portaria n.º 1/96 de 3 de janeiro*. 8–9 (1996).
8. Palmer, J. J. *How to brew: everything you need to know to brew beer right the first time*. (Brewers Publications, 2006).
9. Kodama, Y., Kielland-Brandt, M. C. & Hansen, J. Lager brewing yeast. in *Comparative Genomics* (eds. Sunnerhagen, P. & Piskur, J.) vol. 15 145–164 (Springer Berlin Heidelberg, 2006).
10. Mander, L. N. & Liu, H. *Comprehensive natural products II: chemistry and biology*. (Elsevier Science, 2010).
11. The Brewers of Europe. *European Beer Trends, Statistics Report, 2020 Edition*. 32 <https://brewersofeurope.org/uploads/mycms-files/documents/publications/2020/european-beer-trends-2020.pdf> (2020).
12. Wunderlich, S. & Back, W. Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and Quality Criteria. in *Beer in Health and Disease Prevention* 3–16 (Elsevier, 2009).
13. Gupta, M., Abu-Ghannam, N. & Gallagher, E. Barley for Brewing: Characteristic Changes during Malting, Brewing and Applications of its By-Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **9**, 318–328 (2010).
14. Punda, I. *Barley Malt Beer*. 70 (2009).
15. Stewart, G. G. Beer: Raw Materials and Wort Production. in *Encyclopedia of Food and Health* 355–363 (Elsevier, 2016).

16. Jones, B. L. Endoproteases of barley and malt. *Journal of Cereal Science* **42**, 139–156 (2005).
17. Hartmeier, W. & Reiss, M. Production of Beer and Wine. in *Industrial Applications* (ed. Hofrichter, M.) 59–77 (Springer Berlin Heidelberg, 2011).
18. Bamforth, C. W. Progress in Brewing Science and Beer Production. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering* **8**, 161–176 (2017).
19. Kunze, W. *Technology Brewing and Malting*. (VLB, 2019).
20. Anniss, B. J. & Reed, R. J. R. Lipids in the brewery: A material balance. *Journal of the Institute of Brewing* **91**, 82–87 (1985).
21. Habschied, K., Košir, I. J., Krstanović, V., Kumrić, G. & Mastanjević, K. Beer Polyphenols—Bitterness, Astringency, and Off-Flavors. *Beverages* **7**, 38 (2021).
22. Schnitzenbaumer, B. & Arendt, E. K. Brewing with up to 40% unmalted oats (*Avena sativa*) and sorghum (*Sorghum bicolor*): a review: Brewing with up to 40% unmalted oats and sorghum. *J. Inst. Brew.* (2014).
23. *Brewing: science and practice*. (CRC Press ; Woodhead Pub. Ltd, 2004).
24. Schmitt, M. R., Skadsen, R. W. & Budde, A. D. Protein mobilization and malting-specific proteinase expression during barley germination. *Journal of Cereal Science* **58**, 324–332 (2013).
25. Sammartino, M. Enzymes in Brewing. *TQ* (2015).
26. Goldammer, T. *The brewer's handbook: the complete book to brewing beer*. (Apex Publishers, 2008).
27. Rani, H. & Bhardwaj, R. D. Quality attributes for barley malt: “The backbone of beer”. *Journal of Food Science* **86**, 3322–3340 (2021).
28. Palmer, J. J. & Kaminski, C. *Water: a comprehensive guide for brewers*. (Brewers Publications, 2013).
29. Diário da República n.º 164/2007, Série I. *Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de agosto*. 5747–5765 (2007).
30. Comrie, A. A. D. Brewing liquor: A Review. *Journal of the Institute of Brewing* **73**, 335–346 (1967).
31. Stratford, M. Yeast flocculation: Calcium specificity. *Yeast* **5**, 487–496 (1989).
32. Eumann, M. *Water in brewing. Brewing: New Technologies*. (Woodhead Publishing Limited, 2006).

33. Solberg, S. Ø., Brantestam, A. K., Kylin, M., Bjørn, G. K. & Thomsen J, M. G. Genetic variation in Danish and Norwegian germplasm collections of hops. *Biochemical Systematics and Ecology* **52**, 53–59 (2014).
34. Johnstone, D. I. H. in *Ferment* 325–329 (1997).
35. Murakami, A. *et al.* Microsatellite DNA Analysis of Wild Hops, *Humulus lupulus* L. *Genet Resour Crop Evol* **53**, 1553–1562 (2006).
36. Meilgaard, M. Hop analysis, cohumulone factor and the bitterness of beer: Review and critical evaluation. *Journal of the Institute of Brewing* **66**, 35–50 (1960).
37. Askew, H. O. Changes in hop α acids concentrations on heating in aqueous solutions and unhopped worts. *Journal of the Institute of Brewing* **70**, 503–513 (1964).
38. Maarse, H., Visscher, C. A. & Centraal Instituut voor Voedingsonderzoek. *Volatile compounds in food: qualitative and quantitative data. Suppl. 1 and cumulative index.* (1991).
39. Charles Faram. Hop Varieties and their Brewing Characteristics. *Murphy & Son Limited* <https://www.murphyandson.co.uk/resources/technical-articles/hop-varieties-and-their-brewing-characteristics/>.
40. Chapman, A. C. J. *Inst. Brewing*. 433 (1931).
41. Anderson, R. G. 25th Cong. Eur. Brew. Conv. in 13 (1995).
42. De Deken, R. H. The Crabtree Effect: A Regulatory System in Yeast. *Journal of General Microbiology* **44**, 149–156 (1966).
43. Hagman, A., Säll, T. & Piškur, J. Analysis of the yeast short-term Crabtree effect and its origin. *FEBS J* **281**, 4805–4814 (2014).
44. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. & Stryer, L. Glycolysis is an energy-conversion pathway in many organisms. in *Biochemistry* (W.H. Freeman, 2002).
45. Bokulich, N. A. & Bamforth, C. W. The Microbiology of Malting and Brewing. *Microbiol Mol Biol Rev* **77**, 157–172 (2013).
46. Verstrepen, K. J., Derdelinckx, G., Verachtert, H. & Delvaux, F. R. Yeast flocculation: what brewers should know. *Appl Microbiol Biotechnol* **61**, 197–205 (2003).
47. Lodolo, E. J., Kock, J. L. F., Axcell, B. C. & Brooks, M. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* – The main character in beer brewing. *FEMS Yeast Research* **8**, 1018–1036 (2008).
48. Willaert, R. The Beer Brewing Process: Wort Production and Beer Fermentation. in *Handbook of Food Products Manufacturing* (ed. Hui, Y. H.) 443–506 (John Wiley & Sons, Inc., 2007).

49. Galitsky, C., Martin, N., Worrell, E. & Lehman, B. *Energy Efficiency Improvement and Cost Saving Opportunities for Breweries: An ENERGY STAR(R) Guide for Energy and Plant Managers*. LBNL--50934, 819468 (2003).
50. Aliyu, S. & Bala, M. Brewer's spent grain: a review of its potentials and applications. *African Journal of Biotechnology* 324–331 (2011).
51. Barth, R. *The chemistry of beer: the science in the suds*. (John Wiley & Sons, Inc, 2013).
52. White, C. & Zainasheff, J. *Yeast: the practical guide to beer fermentation*. (Brewers Publications, 2010).
53. Chan, L., Driscoll, D., Kuksin, D. & Saldi, S. Measuring Lager and Ale Yeast Viability and Vitality Using Fluorescence-Based Image Cytometry. *TQ* (2016).
54. Parker, D. K. Beer: production, sensory characteristics and sensory analysis. in *Alcoholic Beverages* 133–158 (Elsevier, 2012).
55. Bamforth, C. W. Beer Haze. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **57**, 81–90 (1999).
56. Van der Sman, R. G. M., Vollebregt, H. M., Mepschen, A. & Noordman, T. R. Review of hypotheses for fouling during beer clarification using membranes. *Journal of Membrane Science* **396**, 22–31 (2012).
57. Cristea, S. P., Mazaeda, R. & de Prada, C. Optimal Control of Beer Filtration Process. *IFAC Proceedings Volumes* **46**, 762–767 (2013).
58. dos Santos Bernardi, G. *et al.* Microfiltration for Filtration and Pasteurization of Beers. in *Engineering Tools in the Beverage Industry* 405–434 (Elsevier, 2019).
59. Stewart, G. G. & Priest, F. G. *Handbook of Brewing*. (CRC Press, 2006).
60. Freeman, G. J. Reducing microbial spoilage of beer using filtration. in *Brewing Microbiology* 241–251 (Elsevier, 2015).
61. Ambrosi, A., Cardozo, N. S. M. & Tessaro, I. C. Membrane Separation Processes for the Beer Industry: a Review and State of the Art. *Food Bioprocess Technol* **7**, 921–936 (2014).
62. Sparks, T., Chase, George. *Filters and filtration handbook*. (2016).
63. Purchas, D. B. & Sutherland, K. Testing Filter Media. in *Handbook of Filter Media* 453–496 (Elsevier, 2002).
64. Antonides, L. E. *Diatomite*. (1997).
65. Fillaudeau, L., Blanpain-Avet, P. & Daufin, G. Water, wastewater and waste management in brewing industries. *Journal of Cleaner Production* **14**, 463–471 (2006).

66. Devolli, A., Kodra, M., Shahinasi, E., Stafasani, M. & Dara, F. Determination of Optimal Kieselguhr Doses to Improve Beer Filtration. in *2017 UBT International Conference* (University for Business and Technology, 2017). doi:10.33107/ubt-ic.2017.153.
67. Freeman, G. J. Separation technologies in brewing. in *Separation, Extraction and Concentration Processes in the Food, Beverage and Nutraceutical Industries* 430–449 (Elsevier, 2013).
68. Bamforth, C. W. Beer Haze. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **57**, 81–90 (1999).
69. Braun, F., Becker, T., Back, W. & Krottenthaler, M. Investigation of Beer Filtration Using Cellulose Fibers in a Pilot-Scale Filter Plant. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **68**, 139–147 (2010).
70. Bamforth, C. W. *Brewing: new technologies*. (Woodhead publ, 2006).
71. *Carbon black, titanium dioxide, and talc*. (International Agency for Research on Cancer ; Distributed by WHO Press, 2010).
72. Gan, Q. *et al.* Beer clarification by microfiltration — product quality control and fractionation of particles and macromolecules. *Journal of Membrane Science* **194**, 185–196 (2001).
73. Perlmutter, B. A. Types of Filtration Systems. in *Solid-Liquid Filtration* 35–45 (Elsevier, 2015).
74. Pall Corporation. *Nexis® T Filter Cartridges For Clarification and Particle Reduction*. 3 (2013).
75. Dutch. *Basics of Filtration*. (2019).
76. Reed, R. J. R. Centenary Review Article Beer Filtration. *Journal of the Institute of Brewing* **92**, 413–419 (1986).
77. Pasquali, C. *Filtration Efficiency: Understanding retention efficiencies for filter cartridges*. (2017).
78. Singh, R. *Membrane technology and engineering for water purification: application, systems design and operation*. (2015).
79. Kuchel, L., Brody, A. L. & Wicker, L. Oxygen and its reactions in beer. *Packag. Technol. Sci.* **19**, 25–32 (2006).
80. Freeman, G. J. & McKechnie, M. T. Filtration and Stabilization of Beers. in *Fermented Beverage Production* (eds. Lea, A. G. H. & Piggott, J. R.) 365–392 (Springer US, 2003).

81. Bamforth, C. W. Flavour changes in beer: oxidation and other pathways. in *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications* 424–444 (Elsevier, 2010).
82. Stephenson, W. H., Biawa, J.-P., Miracle, R. E. & Bamforth, C. W. Laboratory-Scale Studies of the Impact of Oxygen on Mashing. *Journal of the Institute of Brewing* **109**, 273–283 (2003).
83. Barnette, B. M. & Shellhammer, T. H. Evaluating the Impact of Dissolved Oxygen and Aging on Dry-Hopped Aroma Stability in Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **77**, 179–187 (2019).
84. Vanderhaegen, B., Neven, H., Verachtert, H. & Derdelinckx, G. The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chemistry* **95**, 357–381 (2006).
85. Baxter, E. D. & Hughes, P. S. *Beer: quality, safety and nutritional aspects*. (Royal Society of Chemistry, 2001).
86. *Brewing materials and processes: a practical approach to beer excellence*. (Elsevier, Academic Press is an imprint of Elsevier, 2016).
87. Hach. How To Measure Dissolved Oxygen in the Brewery. (2018).
88. Gagula, G. *et al.* The influence of packaging material on volatile compounds of pale lager beer. *Food Packaging and Shelf Life* **24**, 100496 (2020).
89. Ficha Técnica: Randacel® 200. (2021).
90. Ficha Técnica: Celatom® FW. (2020).
91. Ficha Técnica: Celatom® FP. (2020).
92. Hach. ORBISPHERE 3100 Optical Dissolved Oxygen Analyzer. (2016).
93. Denwel. Portable analyzer for accurate oxygen measurement: ORBISPHERE 3100. (2021).
94. HANNA. Refratómetro digital HI96800 para medição de índice refrativo. *HANNA Instruments* <https://www.hanna.pt/produto/hi96800>.
95. HACH. 2100Q Portable Turbidimeter (EPA). *HACH* <https://pt.hach.com/2100q-portable-turbidimeter-epa/product?id=24929826824>.
96. HANNA. HANNA HI 2020-02 edge®pH. *HANNA Instruments* <https://hannainst.com.br/produto/hi2020-02/>.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabela 5 – Valores médios referentes à medição de OD nas cervejas filtradas por cartuchos.

Lotes	Teor de OD na Cerveja (ppb)	
	Antes da Filtração	Após a Filtração
C079EX	23,50	11,95
C078LP	46,00	40,20
D005APA	46,95	40,80
D004EX	35,00	28,50
D006LL	20,50	82,75
D007IPA	38,20	30,75
D013RL	29,40	162,30
D024EX	34,00	15,00
D026BP	39,50	18,00
D033LP	23,50	17,50
D038RL	42,50	30,25
D045LL	36,00	56,30
D050LP	25,75	15,25

Tabela 6 - Valores médios referentes à medição de OD nas cervejas filtradas por terra de diatomáceas.

Lotes	Teor de OD na Cerveja (ppb)	
	Antes da Filtração	Após a Filtração
C077SL	18,50	122,00
D009LL	42,05	153,80
D010SL	40,00	213,30
D015LL	20,40	112,50
D018LL	35,15	267,30
D025IPA	20,00	215,50
D022LL	22,40	100,00
D031LL	65,50	119,30
D030BIO	54,75	93,00