

Mestrado Integrado em Engenharia Química

Desenvolvimento e implementação de método analítico para quantificação de extrato solúvel e extraível na drecche

Dissertação de Mestrado

de

Ricardo André Pinho Correia

Desenvolvida no âmbito da unidade curricular de Dissertação

realizado em

Super Bock Bebidas, SA



Orientador na FEUP: Professora Doutora Lúcia Santos

Orientador na Empresa: Dra. Ana Bela Pinheiro



Departamento de Engenharia Química

Julho de 2018

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao Super Bock Group pela oportunidade de estágio nas instalações de Leça do Balio, pelas condições proporcionadas e por um ótimo primeiro contacto com a indústria.

Um especial agradecimento à Dra. Ana Bela Pinheiro por ter impulsionado o presente projeto e pelo potenciamento de uma aprendizagem inestimável em ambiente empresarial, assim como pela clareza e rigor com que acompanhou todo o trabalho.

À equipa do Laboratório Central, pela agradável integração, companheirismo e por todo o auxílio prestado ao longo deste trabalho. À Helena Cunha, Marina Alves, Florbela Faria, Ana Rita Silva, Conceição Mendes, Rui Roque, Manuel Bandeirinha, Lúcia Noronha e Telmo Fernandes o meu mais sincero obrigado.

Aos meus pais e avós pelos valores incutidos, constante apoio e uma dose inesgotável de carinho.

À Luísa, pela paciência, ajuda e por estar presente em todas as etapas cruciais da minha vida.

À Profa. Lúcia Santos, orientadora desta dissertação, é membro integrado do LEPABE - Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente Biotecnologia e Energia, financiado pelo POCI-01-0145-FEDER-006939, Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), através do COMPETE2020 - Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI) e por fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia. Um profundo agradecimento pelo acompanhamento e orientação deste projeto, assim como pela disponibilidade que sempre demonstrou.



Resumo

O Super Bock Group é a maior empresa portuguesa de bebidas refrescantes, com uma estratégia multimarca e multimercado, cuja atividade central assenta nos negócios das cervejas e das águas engarrafadas. A implementação dos métodos de quantificação de extrato solúvel e extraível na dreche pretendeu sobretudo assegurar que a perda de extrato nas várias etapas de produção de mosto realizadas na sala de fabrico seja diminuída, permitindo que a dreche, que é um subproduto da indústria cervejeira e consiste na fração sólida que resulta da filtração do mosto, seja utilizada da maneira mais rentável possível. A maioria da dreche produzida é utilizada como alimento de baixo valor para animais.

Os extratos quantificados são essencialmente constituídos pelos açúcares que não são utilizados na etapa de fermentação do processo de fabricação de cerveja.

O extrato solúvel é normalmente obtido por um método rápido envolvendo a prensagem da dreche numa prensa manual ou equivalente, enquanto que o extrato extraível requer a moagem de uma pequena quantidade de dreche, sendo esta aquecida até à ebulição e fervida com a adição de uma solução contendo as enzimas Termamyl 120L e SAN Super 360L. A quantificação dos dois extratos é efetuada recorrendo à determinação da densidade do líquido obtido num medidor de densidade Anton Paar DMA 4500, que recorre a um método de oscilação de tubo em U. Uma maior quantidade de extratos quantificáveis significa uma maior perda de eficiência no processo.

A qualidade das matérias-primas rececionadas e a sua moagem, assim como percentagem de malte envolvida no processo de produção de mosto revelou-se um fator determinante na tentativa de diminuição dos valores quantificados de extrato solúvel e extraível.

Na etapa de filtração do mosto foram utilizados dois filtros que revelaram valores discrepantes ao nível de ambos os extratos medidos. O filtro 2, filtro de menor capacidade e instalado mais recentemente, permitiu obter quantidades superiores ao nível do extrato solúvel e do extrato extraível.

Os métodos de obtenção e quantificação dos extratos solúvel e extraível implementados foram validados através de uma análise independente interlaboratorial, nos laboratórios da Carlsberg.

Foi possível concluir que existe a possibilidade de melhoria de rentabilidade na extração de açúcares da matéria-prima utilizada e que os dois métodos combinados serão preponderantes na deteção de problemas de qualidade nas matérias-primas, assim como no funcionamento geral de fabricação de mosto.

Palavras Chave (Cerveja): Fabricação de Mosto, Dreche, Extratos Solúvel e Extraível

Abstract

Super Bock Group is the largest Portuguese beverage company with a multi-brand and multimarket strategy, whose core activity is based on the beer and bottled water business. The implementation of soluble and extractable extract quantification methods in spent grains was mainly intended to ensure that the loss of extract in the various stages of wort production in the manufacturing room is reduced, allowing spent grains, which are a by-product of the brewing industry and consists in the solid fraction resulting from the filtration of the wort, to be used in the most cost-effective manner possible. Most of the spent grains produced are used as low value feed for animals.

The quantified extracts are essentially composed by sugars that will not be used in the fermentation stage of the brewing process.

The soluble extract is usually obtained by a rapid method involving the pressing of the spent grains in a manual press or equivalent, whereas the extractable extract requires the grinding of a small amount of spent grains, which are heated to boiling and boiled with the addition of a solution containing the enzymes Termamyl 120L and SAN Super 360L. The quantification of the two extracts is performed by determining the density of the liquid obtained in an Anton Paar DMA 4500 density meter, which uses a U-tube oscillation method. A larger quantity of quantifiable extracts means a greater loss of efficiency in the process.

The quality of the raw materials received and their milling, as well as the percentage of malt involved in the wort production process, proved to be a determining factor in the attempt to decrease the quantified values of soluble and extractable extract.

In the filtration stage of the wort, two filters were used which revealed discrepant values at the level of both measured extracts. The filter 2, a filter of smaller capacity and installed more recently, presents higher quantities for both the soluble extract as well as the extractable extract.

The implemented methods were validated through an independent interlaboratory analysis in Carlsberg laboratories.

It was possible to conclude that there is a possibility of improving profitability in the extraction of sugars from the raw material used and that the two methods combined will be crucial in the detection of quality problems in raw materials, as well as in the general production of wort.

Keywords (Beer): Wort Production, Spent Grains, Soluble and Extractable Extracts

Declaração

Declara, sob compromisso de honra, que este trabalho é original e que todas as contribuições não originais foram devidamente referenciadas com identificação da fonte.

Ricardo André Pinho Correia



Índice

Índice	i
Lista de Figuras.....	iii
Lista de Tabelas	ii
Notação e Glossário.....	iv
1 Introdução	1
1.1 Enquadramento e Apresentação do Projeto	1
1.2 Apresentação da Empresa	2
1.3 Contributos do Trabalho	4
1.4 Organização da Tese	4
2 Contexto e Estado da Arte	7
2.1 Cerveja	7
2.1.1 Definição	7
2.1.2 História	7
2.2 Processo de Produção	8
2.2.1 Matérias-Primas	8
2.2.2 Fabricação de Mosto	9
2.2.3 Fermentação	11
2.2.4 Enchimento	12
2.3 Dreche	12
2.3.1 Extrato Solúvel e Extraível	14
2.4 Métodos de Determinação de Extrato Solúvel e Extraível	16
2.5 <i>High Gravity Brewing</i>	17
3 Materiais e Métodos	19
3.1 Obtenção de Amostras	19
3.2 Método de Obtenção do Extrato Solúvel	19
3.2.1 Método Direto	19

3.2.2	Método EBC	20
3.3	Método de Obtenção do Extrato Extraível	21
4	Resultados e Discussão	25
4.1	Análise por Tipo de Cerveja	25
4.1.1	Estabilidade do Branco	30
4.2	Análise Comparativa aos Filtros	30
4.3	Extrato Solúvel e Extrato das Últimas Águas	33
4.4	Comparação de Métodos de Determinação de Extrato Solúvel	36
4.5	Congelação de amostras para posterior análise	37
4.6	Precisão das Metodologias Implementadas	38
4.6.1	Repetibilidade	38
4.6.2	Reprodutibilidade	40
4.7	Determinação de FAN nos Extratos	41
4.8	Mini-Fábrica	42
5	Conclusões	45
6	Avaliação do Trabalho Realizado	47
6.1	Objetivos Realizados	47
6.2	Outros Trabalhos Realizados	47
6.3	Limitações e Trabalho Futuro	47
6.4	Apreciação Final	48
	Referências	49
	Anexo 1	51
	Anexo 2	53
	Anexo 3	57
	Anexo 4	61

Lista de Figuras

<i>Figura 1 - Sala de fabrico durante a década de 60.....</i>	<i>2</i>
<i>Figura 2 - Marcas exploradas pelo Super Bock Group.....</i>	<i>3</i>
<i>Figura 3 - Diferentes tipos de cerveja</i>	<i>7</i>
<i>Figura 4 - Produção de cerveja no século XVI</i>	<i>8</i>
<i>Figura 5 - Malte para produção cervejeira</i>	<i>8</i>
<i>Figura 6 - Filtro Meura 2001</i>	<i>10</i>
<i>Figura 7 - Dreche resultante do fabrico de Super Bock</i>	<i>12</i>
<i>Figura 8 - Prensa utilizada na obtenção de extrato solúvel</i>	<i>14</i>
<i>Figura 9 - Medidor de densidade e álcool Anton Paar DMA 4500</i>	<i>14</i>
<i>Figura 10 - Logótipo do EBC.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 11 - Esquema representativo da metodologia adotada na quantificação do extrato solúvel.....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 12 - Esquema representativo da metodologia do EBC na quantificação do extrato solúvel</i>	<i>20</i>
<i>Figura 13 - Esquema ilustrativo da metodologia do EBC na quantificação do extrato extraível</i>	<i>21</i>
<i>Figura 14 - Representação da enzima Termamyl da Novozimes</i>	<i>22</i>
<i>Figura 15 - Banho de Maceração (Brassin)</i>	<i>22</i>
<i>Figura 16 - Variação de temperatura na determinação do extrato extraível.....</i>	<i>23</i>
<i>Figura 17 - Valores de percentagem de Plato no extrato solúvel da Super Bock.....</i>	<i>26</i>
<i>Figura 18 - Valores de percentagem de Plato no extrato solúvel da Cristal</i>	<i>26</i>
<i>Figura 19 - Valores de percentagem de Plato no extrato solúvel da Carlsberg</i>	<i>26</i>
<i>Figura 20 - Valores de percentagem de Plato no extrato extraível da Super Bock</i>	<i>27</i>
<i>Figura 21 - Valores de percentagem de Plato no extrato extraível da Cristal</i>	<i>27</i>
<i>Figura 22 - Valores de percentagem de Plato no extrato extraível da Carlsberg</i>	<i>28</i>
<i>Figura 23 - Palhas após colmatação do filtro</i>	<i>29</i>
<i>Figura 24 - Palhas em excesso no malte</i>	<i>29</i>
<i>Figura 25 - Comparação dos valores de percentagem de Plato no extrato solúvel nos dois filtros</i>	<i>30</i>
<i>Figura 26 - Extrato Solúvel do Fabrico 671</i>	<i>31</i>
<i>Figura 27 - Comparação dos valores de percentagem de Plato no extrato extraível nos dois filtros....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 28 - Exemplo de má moagem do malte</i>	<i>33</i>
<i>Figura 29 Comparação da percentagem de Plato nas últimas águas e no extrato solúvel no filtro 1 ...</i>	<i>34</i>
<i>Figura 30 - Comparação da percentagem de Plato nas últimas águas e no extrato solúvel no filtro 2..</i>	<i>35</i>
<i>Figura 31 - Método direto de quantificação de extrato solúvel vs. Método EBC.....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 32 - Comparação dos valores de percentagem de Plato do extrato solúvel antes e após congelação</i>	<i>37</i>
<i>Figura 33 - Comparação dos valores de percentagem de Plato do extrato extraível antes e após congelação</i>	<i>38</i>
<i>Figura 34 - Cervejas Seleção 1927</i>	<i>42</i>

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1 - Gamas de temperatura e pH para atividade ideal de enzimas</i>	<i>10</i>
<i>Tabela 2- Composição da dreche</i>	<i>13</i>
<i>Tabela 3 - Causas de elevado extrato solúvel.....</i>	<i>15</i>
<i>Tabela 4- Dados estatísticos para vários tipos de cerveja</i>	<i>28</i>
<i>Tabela 5 - Dados estatísticos para os dois filtros</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 6 - Valores de TAE obtidos para o fabrico 538.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabela 7 - Dados estatísticos de repetibilidade</i>	<i>40</i>

Notação e Glossário

Q	Caudal de filtração	hL/h
t	Tempo	h/min
A	Área	m ²
T	Temperatura	°C
E _S	Extrato solúvel	%P
E _E	Extrato extraível	%P
TAE	Extrato total	%P
P	Extrato no filtrado	%P
PO	Extrato na solução de correção	%P
m	Massa	g
C	Custo	€/§
V	Volume	mL
H	Humidade	%m/m

Letras gregas

ρ	densidade	g/cm ³
μ	viscosidade	Pa.s
σ	desvio padrão	

Índices

<i>i</i>	índice ou contador
----------	--------------------

Lista de Siglas

ASBC	<i>American Society of Brewing Chemists</i>
CIP	<i>Clean-in-Place</i>
CUFP	Companhia União Fabril Portuense
CV	Coeficiente de Variação
DMS	Dimetilsulfureto
EBC	<i>European Brewery Convention</i>
FAN	<i>Free Amino Nitrogen</i>
HGB	<i>High Gravity Brewing</i>
LC	Laboratório Central
MCQ	Manual de Controlo de Qualidade
MEBAK	<i>Mitteuropäische Brautechnische Analysenkommission</i>
PIE	Plano de Inspeção e Ensaio
PVPP	Polivinilpolipirrolidona
sms	sobre matéria seca
smtq	sobre matéria tal e qual
TAE	<i>Total Available Extract</i>

1 Introdução

1.1 Enquadramento e Apresentação do Projeto

O presente projeto foi desenvolvido nas instalações da empresa Super Bock Bebidas, S.A., Centro de Produção de Cerveja de Leça do Balio, no âmbito da unidade curricular Dissertação, do Mestrado Integrado em Engenharia Química, da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

O objetivo do projeto consistiu essencialmente na implementação de metodologias de extração de açúcares fermentáveis presentes na dreche, envolvendo prensagem mecânica e brassagem com adição enzimática e posterior quantificação dos mesmos por meio de determinação da sua densidade num Anton Paar DMA 4500, recorrendo ao método de oscilação de um tubo em U. A dreche representa a fração sólida que resulta da filtração do mosto durante o processo de produção da cerveja. Estes métodos serão úteis para a elucidação das razões da quebra de eficiência presente no processo de produção de mosto, percussor da cerveja. Sabendo-se a quantidade de açúcares ainda presente no subproduto da produção cervejeira, será então possível abordar soluções de melhoria no processo ao nível de filtração do mosto, assim como à qualidade de matérias-primas rececionadas.

Numa fase inicial de implementação da metodologia foi efetuada uma recolha de bibliografia referente ao método a implementar, adequando-o às necessidades específicas da empresa. Foi, posteriormente, necessária uma familiarização e calibração dos equipamentos a utilizar. Seguiu-se a aquisição do material em falta, nomeadamente as soluções enzimáticas, vitais à implementação da metodologia. Realizou-se recolha diária de amostras de dreche e seu posterior tratamento, que consiste na sua secagem de modo a retardar a deterioração da matéria orgânica, de modo a poderem ser corretamente utilizadas na determinação dos extratos pretendidos.

Durante a realização do projeto foram também desenvolvidas competências na área de análise e controlo de qualidade. Destaca-se a aprendizagem da análise a matérias-primas cruciais à indústria cervejeira, sendo estas: a determinação de rendimentos de maltes e griz por brassagem, assim como a sua cor e humidade; a triagem, friabilidade e controlo de moagem do malte e a granulometria e determinação de matérias gordas no griz (extração sólido-líquido por Soxhlet); a determinação da pureza e adsorção da catequina numa solução de polivinilpolipirrolidona (PVPP); a determinação do ferro no kieselguhr (método espectrofotométrico); a análise a corantes de caramelo e extratos de malte; a determinação da concentração de azoto aminado livre (*Free Amino Nitrogen* (FAN)) no mosto e em produto acabado (método espectrofotométrico) e a determinação da concentração de polifenóis em produto acabado (método espectrofotométrico).

Foi ainda realizada a aprendizagem de métodos analíticos para a determinação de aspetos físico-químicos da cerveja, destacando-se: a determinação de álcool, extrato, pH e cor com recurso a um Anton Paar DM 4500; determinação da estabilidade de espuma com recurso a um medidor Haffmans NIBEM e determinação de CO₂ (medidor Carbo QC); determinação de substâncias amargas por espectrofotometria e turvação a 0 e 20 °C (Turbidímetro Sigrist).

Além do trabalho relacionado com o projeto inicial proposto foi ainda possível adquirir conhecimentos na área da cromatografia gasosa, nomeadamente GC-FID, de modo a determinar a concentração de diacetilo na cerveja em fermentação. Por fim, desenvolveu-se a aprendizagem de técnicas de análise a águas utilizadas no decorrer da produção de cerveja, destacando-se a determinação da alcalinidade, dureza total, concentração de fosfatos, sulfitos, ferro e sílica, assim como a determinação do cloro livre e da oxidabilidade.

1.2 Apresentação da Empresa

A Companhia União Fabril Portuense (CUFP), antecessora da Unicer (por sua vez antecessora do recém denominado Super Bock Group), surgiu a 7 de março de 1890, com a união das principais fábricas de cerveja e refrigerantes do Porto, que se propuseram a reunir capacidades financeiras e técnicas para desenvolver o seu setor de atividade. Foram sete fábricas ao todo, seis do Porto e uma de Ponte da Barca, entre 19 sócios fundadores, que deram origem a uma sociedade anónima de responsabilidade limitada.

A Companhia começou a laborar com 13 trabalhadores, produzindo, essencialmente, cervejas, gasosas e gelo, em quantidades limitadas, alargando os negócios aos vinhos, licores, cognacs e outras bebidas alcoólicas. Com uma produção de cerveja inferior a 400 mil litros anuais, as vendas da CUFP concentravam-se no mercado nortenho, com maior incidência na cidade do Porto.

Alberto Marques da Fonseca criou, em 1926, a Super Bock. Esta cerveja, inspirada no tipo de cerveja Bock, revelava-se uma cerveja mais forte que a, já existente, Cristal. Aparece como cerveja de prestígio e é lançada como marca de inverno. Nos anos seguintes foi sempre produzida em pequeníssimas quantidades, estrategicamente resguardada das crises financeiras, da crise internacional de 1929, da grande depressão dos anos 30 e da 2ª Guerra Mundial.

No período revolucionário a seguir ao 25 de abril, em 1975, a CUFP, tal como todas as empresas cervejeiras nacionais, foi nacionalizada. A nacionalização conduziu a um processo



Figura 1 - Sala de fabrico durante a década de 60

de reestruturação do setor cervejeiro nacional, com a criação de duas empresas públicas em finais de 1977: a Unicer - União Cervejeira e a Centralcer (reunindo a Sociedade Central de Cervejas e a Cergal).

Contra as piores previsões e com muita criatividade e competência, a Unicer EP em poucos anos aumentou a produção e as vendas. Em 1986 passaria mesmo a liderar o mercado nacional de cerveja com quase 200 milhões de litros vendidos e uma quota de cerca de 51%, para além de importantes volumes de vendas nos refrigerantes e nas águas. A impressionante consolidação financeira e económica da Unicer nos anos oitenta levaram a que fosse escolhida pelo Governo para iniciar o processo de privatizações.

A partir de 2006 a Unicer foca-se no seu core business e aposta nas áreas da cerveja e águas, com destaque para as marcas Super Bock e Pedras. Esta fase fica ainda marcada pela aposta na internacionalização, por uma crescente atenção à sustentabilidade ambiental e à responsabilidade social. Nesta fase foram encerrados os centros de produção de Loulé e Santarém, concentrando-se toda a produção em Leça do Balio, onde se iniciou a construção de um novo complexo industrial, em 2012, (com um novo centro de produção com capacidade para 450 milhões de litros/ano, nova sede-administrativa e um armazém logístico criado de raiz, totalmente automatizado), projetando o futuro com elevados padrões de qualidade e eficiência.

Atualmente, o Super Bock Group é a maior empresa portuguesa de bebidas refrescantes, com uma estratégia multimarca e multimercado, cuja atividade central assenta nos negócios das cervejas e das águas engarrafadas. Encontra-se, igualmente, presente nos segmentos dos refrigerantes, dos vinhos, na produção e comercialização de malte e no negócio do turismo.

Trata-se de uma empresa de capital maioritariamente português, detida em 56% pelo Grupo VIACER (Violas, Arsopi e BPI) e em 44% pelo Grupo Carlsberg.

A empresa apresenta um portfólio variado de produtos e marcas, atuando em cinco segmentos: cervejas; águas; refrigerantes; vinhos e sidras (figura 2).

Para além do principal centro de produção em Leça do Balio, o Super Bock Group conta ainda com outros centros de produção, localizando-se estes em: Pedras Salgadas, Castelo de Vide, Caramulo, Envendos, Melgaço e Póvoa do Lanhoso.



Figura 2 - Marcas exploradas pelo Super Bock Group

O Super Bock Group está presente em Portugal, assim como nos mercados da Europa Central, África, na América, Ásia e por fim na Oceânia^[1].

1.3 Contributos do Trabalho

Ao longo do desenvolvimento do projeto proposto, foi efetuado um acompanhamento das operações realizadas na denominada “Sala de Fabrico do Super Bock Group”, nomeadamente às matérias rececionadas e às dificuldades inerentes ao processo de produção de mosto.

Foi necessária a encomenda de material necessário para o desenvolvimento do projeto, nomeadamente as enzimas necessárias para a implementação do método de obtenção do extrato extraível na dreche. No Laboratório Central já existia grande parte do material necessário, salientando-se o banho de maceração (Brassin), útil para a brassagem da dreche de modo a obter o seu extrato extraível, e o medidor de densidade Anton Paar DMA 4500, usado na quantificação dos extratos solúvel e extraível por meio de determinação da densidade do líquido.

Este trabalho consistiu na implementação do método, recolha, tratamento e análises de amostras de dreche. Foi também elaborado um guia de trabalho para os dois métodos (Manual de Controlo de Qualidade (MCQ)), de modo a facilitar a execução da análise por qualquer operador.

Além disso, este trabalho contribuiu para uma possível implementação de melhorias nos processos de produção de mosto, assim como na implementação de boas práticas de controlo de qualidade das matérias-primas rececionadas.

1.4 Organização da Tese

O primeiro capítulo descreve sucintamente o projeto desenvolvido, a forma em como este surge e a sua relevância no seio da empresa. É ainda feita a apresentação da empresa em que se desenrolou o projeto e os contributos para o trabalho, assim como uma descrição da organização da tese.

No segundo capítulo é estipulado o estado da arte da indústria cervejeira, com a história da cerveja e do seu processo produtivo, seguindo-se uma descrição detalhada deste mesmo processo. É ainda destacada uma definição sobre a dreche, relevando a importância da determinação do seu extrato solúvel e extraível e explanando por fim os métodos já existentes para a sua determinação. Neste capítulo descreve-se ainda o processo de *High Gravity Brewing* e a sua correlação com os métodos a implementar.

O terceiro capítulo consiste exclusivamente com a descrição dos métodos utilizados na elaboração do projeto, assim como o material necessário para a sua concretização.

O quarto capítulo explora os resultados obtidos, numa análise a vários tipos de cerveja produzidas pelo Super Bock Group, assim como aos dois filtros Meura 2001 existentes na “Sala de Fabrico no polo industrial de Leça de Balio”. É efetuada a comparação de resultados de dois métodos de determinação do extrato solúvel, bem como os resultados da comparação dos métodos a implementar com a análise às últimas águas de lavagem dos filtros. Segue-se a análise de amostras congeladas durante um mês, de modo a verificar a longevidade da análise implementada. Termina-se este capítulo com uma análise da precisão do método de determinação de extrato total, com a determinação dos extratos de fabricos da Mini-Fábrica da empresa e com a determinação de FAN no extrato solúvel.

No quinto capítulo estão descritas as principais conclusões retiradas do projeto e, por fim, o último capítulo faz uma avaliação geral do trabalho realizado.

2 Contexto e Estado da Arte

2.1 Cerveja

2.1.1 Definição

Analisando a palavra cerveja etimologicamente, constata-se que esta surge do latim “*cervesia*”, designação para bebida fermentada e que a raiz comum da palavra é a expressão “*cervesium bibere*” que terá estado na origem das várias traduções europeias da palavra cerveja (*bier*, no Alemão, *beer*, no Inglês, *bière*, no Francês).

A cerveja é uma das mais antigas e mais consumidas bebidas alcoólicas do planeta. As propriedades da água usada na sua fabricação, os tipos de malte, os tipos de fermentação e as leveduras contribuíram para as distinções estabelecidas entre as cervejas.

As cervejas podem ser classificadas como *lagers* ou *ales*, dependendo do tipo de levedura usado durante o processo de fermentação. As *lagers* são produzidas com levedura que fermenta no fundo da mistura de cerveja e as *ales* são feitas com levedura que fermenta no topo. Posteriores diferenciações são fornecidas pelo sabor, cor e aroma da cerveja (figura 3) ^[2].



Figura 3 - Diferentes tipos de cerveja

2.1.2 História

A produção de cerveja está indissociavelmente ligada a três processos bioquímicos consecutivos: a formação de enzimas no grão germinado, o desdobramento de amido em açúcares por estas enzimas e a fermentação destes açúcares, originado álcool e dióxido de carbono (CO₂). Esta conjugação de processos e o seu resultado final já são conhecidos pela humanidade há vários milhares de anos, apesar de a início não se reconhecer a ligação entre eles e como os explorar ^[2]. A produção de cerveja estabeleceu-se como uma atividade humana desde o início da urbanização e civilização, no período neolítico. O advento do consumo de cerveja relaciona-se diretamente com o aparecimento de sociedades agrárias. Esta bebida já era conhecida, há mais de 6000 anos antes de Cristo, por diversos povos da antiguidade dispersos geograficamente, sendo de uma grande importância social. Defende-se ainda que a produção de cerveja antecedeu a produção do próprio pão ^[3]. Constatou-se muito cedo que a cerveja estava livre de germes perigosos e que a água, frequentemente presente em condições

pouco desejáveis, podia ser purificada pelo processo de fermentação e pelos ácidos naturalmente produzidos. Assim sendo, durante muitos séculos, era a cerveja (e o vinho em determinadas áreas), e não água, que saciava a sede tanto da classe alta, como do homem comum.

O processo de produção de cerveja sofreu o seu primeiro scale-up em cervejarias de conventos e mosteiros, sendo esta não só para consumo próprio, como também para venda. O uso do lúpulo foi implementado no século XIV, sendo até à data usada uma mistura de plantas ^[2].

A partir do século XVIII, com a Revolução Industrial, a produção começa a fazer-se em grande escala e o consumo expande-se. Um século mais tarde, as descobertas de Louis Pasteur permitem aperfeiçoar o processo de produção de cerveja - o uso da pasteurização permite dar à cerveja maior durabilidade, tornando possível o transporte a grande distância.

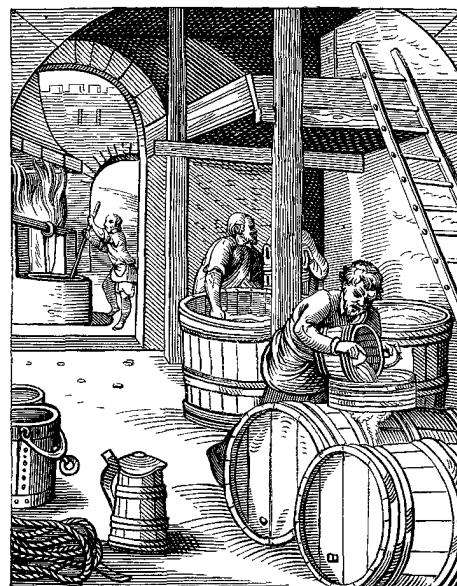


Figura 4 - Produção de cerveja no século XVI

Contudo, foi no século XIX que o fabrico de cerveja recebeu um maior impulso, através da resolução de dois problemas fundamentais: o isolamento das leveduras responsáveis pela fermentação, o que ficou a dever-se ao Professor Emil Christian Hansen, do Laboratório da Carlsberg, e a possibilidade de manutenção dos tanques de fermentação e as caves de guarda a temperaturas baixas durante todo o ano ^{[1] [4]}.

2.2 Processo de Produção

2.2.1 Matérias-Primas

Para a produção de cerveja são necessárias quatro matérias-primas: malte, lúpulo, água e levedura. A qualidade destas matérias-primas terá um impacto decisivo na qualidade do produto final. O conhecimento das propriedades das matérias-primas e os seus efeitos no processo e produto final, será fulcral na abordagem a adotar na otimização do processo global.



Figura 5 - Malte para produção cervejeira

A cevada (*Hordeum vulgare*) fornece o amido necessário à produção de cerveja. É este amido que é convertido em extrato fermentável na indústria cervejeira. Será necessária a maltagem da cevada (figura 5), que consiste na germinação de cereais de modo para desencadear as transformações que a planta conhece

naturalmente no seu crescimento e em parar esta transformação mais ou menos rapidamente, de acordo com as características esperadas. Chegando à fase pretendida da germinação (estado em que o amido já se encontra mais acessível) realiza-se outra operação: a secagem. Este processo pára a germinação e todos os processos metabólicos que se estavam a desenrolar no interior dos grãos de cevada e ao mesmo tempo ativa as enzimas produzidas durante a germinação (amilases) que irão quebrar as macromoléculas de açúcares para que sejam mais facilmente hidrolisáveis, condição necessária para a fase seguinte. No fim da secagem obtém-se o malte propriamente dito. Todos os organismos vivos contêm enzimas, e tanto a cevada como a levedura contêm um vasto leque destas proteínas. Muitas das transformações que ocorrem durante o processo cervejeiro estão dependentes de uma eficiente ação enzimática. As enzimas são proteínas de elevado peso molecular e como biocatalisadores que são, podem permitir que determinadas reações ocorram ou apenas acelerá-las consideravelmente. Elas estão ativas, mesmo que em pequenas concentrações, e determinam a velocidade de reações bioquímicas. O nome de uma enzima é normalmente formado pelo substrato que esta quebra, com a adição da sílaba “ase”.

Entre algumas análises, de fundamental importância, efetuadas ao malte, destacam-se o rendimento esperado, a humidade, a triagem e a friabilidade.

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta trepadeira, que contem resinas amargas e que irá conferir aroma e amargo à cerveja.

A água é a matéria-prima usada em maior quantidade e é vital que seja cuidadosamente analisada, tendo sempre em conta o impacto no consumidor final. A água utilizada no processo cervejeiro é normalmente captada nas imediações das instalações, sendo necessário o seu posterior tratamento para consumo humano.

Por fim, a levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) é um microrganismo unicelular que pode obter a energia que necessita, tanto na presença de oxigénio através de respiração, como na ausência de oxigénio pelo processo de fermentação. Na indústria cervejeira, o açúcar no mosto é fermentado pela levedura, originado álcool e CO₂. Para além da produção destes dois compostos, a levedura terá ainda um impacto preponderante no sabor e características da cerveja ^[2].

2.2.2 Fabricação de Mosto

A primeira fase no processo de produção de uma cerveja é a fabricação do mosto. Esta fase compreende as etapas de moagem, brassagem, filtração do mosto e ebulição do mosto.

A fim de possibilitar a rápida extração e conversão dos componentes do malte, este é moído num moinho de martelos, obtendo-se uma farinha grosseira. Existem cereais não maltados,

como o caso do milho que são habitualmente aprovisionados já com um grau de moagem adequado. Já no caso da cevada não maltada, também esta será sujeita à moagem no moinho de martelos.

A farinha proveniente dos cereais é submetida, após mistura com água, a condições operatórias em que as variáveis tempo, temperatura e pH, são utilizadas de forma a obter-se um mosto de composição adequada ao tipo de cerveja a produzir. Com estas condições está a promover-se o desdobramento das moléculas complexas de amido e proteínas noutras mais simples, através das enzimas formadas durante a produção do malte. A brassagem dura 2 a 4 horas e termina a uma temperatura próxima de 75 °C.

As enzimas mais ativas durante o processo de decomposição das substâncias insolúveis em solúveis, são a α e β amilases (enzimas amilolíticas) e proteases e peptidases (enzimas proteolíticas). A atividade destas enzimas é profundamente dependente do pH e da temperatura da mistura, estando as gamas referentes a estes dois parâmetros representadas na tabela 1.

Tabela 1 - Gamas de temperatura e pH para atividade ideal de enzimas

Enzima	Gama de temperatura ideal (°C)	Gama de pH ideal
α -amilase	70-75	5,6-5,8
β -amilase	60-65	5,4-5,6
protease	50-60	5,0-5,2

Após a brassagem, mistura heterogénea de água com cereais moídos é sujeita a uma filtração de modo a separar a parte insolúvel (dreche, que é um excelente alimento para o gado) do filtrado (mosto). Nas instalações de Leça do Balio, a filtração do mosto, diluído pela entrada de água à mesma temperatura para obtenção de um rendimento adequado, é efetuada num filtro prensa Meura 2001, tendo uma duração de cerca de 2 horas, conduzida a uma temperatura de 75-80 °C.

O filtro Meura 2001 (figura 6) é constituído por placas e quadros distribuídos alternadamente entre um fundo fixo e outro móvel, ao longo de dois suportes longitudinais. O filtro de placas Meura 2001 recebe o mosto, ainda com partículas em suspensão, e este vai saindo para os sulcos das placas, através das telas filtrantes, uma de cada lado do quadro.



Figura 6 - Filtro Meura 2001

Enquanto isso, os resíduos, que nelas ficam retidos, formam um bolo dentro da câmara de filtração que depois é lavado, de maneira a recuperar-se a maior quantidade de extrato possível [5]. A filtração levada a cabo nesta etapa, rege-se pela Lei de Darcy, enunciada de seguida:

$$Q = \frac{dV}{dt} = \frac{\Delta P \times A}{\mu \times R_f} \quad (\text{Equação 1})$$

em que Q é o caudal de filtração, A a área, P a pressão, μ a viscosidade e R_f é a resistência do bolo formado durante a filtração.

Através desta equação é possível deduzir que quanto melhor for efetuada a moagem das matérias-primas, mais eficaz será o processo de filtração.

O ciclo de filtração é constituído por 8 etapas: o enchimento, a filtração, a pré-compressão, a lavagem, a compressão, a descompressão e a abertura e descarga do filtro. Após uso interrupto, as telas de filtração tendem a ficar colmatadas com resíduos de dreche, fazendo com que a eficiência do processo vá decrescendo progressivamente, existindo a necessidade de se proceder a um processo de limpeza. O processo utilizado é o denominado Clean-in-Place (CIP), uma limpeza caustica seguida por enxaguamento manual do equipamento.

O mosto, assim diluído e filtrado, é levado à ebulição durante cerca de 2 horas. É nesta fase que é adicionado o lúpulo. A operação de ebulição tem as seguintes finalidades principais: Solubilização e transformação das substâncias amargas do lúpulo; eliminação de substâncias voláteis indesejáveis, como por exemplo o dimetilsulfureto (DMS); esterilização do mosto; precipitação de proteínas de peso molecular elevado; fixação da concentração final do mosto [2] [3].

2.2.3 Fermentação

A fermentação é a operação durante a qual os açúcares do mosto pela ação da levedura se transformam em álcool e dióxido de carbono. A fermentação inicia-se com a adição de levedura de cultura selecionada para o tipo de cerveja que se pretende produzir, ao mosto arrefecido e saturado em oxigénio. A fermentação é conduzida a temperaturas controladas e tem uma duração de cerca de 7 dias. No início é tumultuosa, tornando-se depois progressivamente mais lenta, até que a levedura se deposita no fundo do tanque. A maturação é a fase subsequente à da fermentação, corresponde ao período de estacionamento da cerveja a temperaturas adequadas com o fim de permitir a libertação dos componentes voláteis indesejáveis ao aroma final da cerveja. A estabilização é a operação seguinte. Consiste em deixar estabilizar a cerveja, a temperaturas entre os 0 °C e os 2 °C, de forma a permitir que esta se equilibre coloidalmente.

A clarificação é a operação que dá à cerveja a sua limpidez, eliminando os últimos elementos de turvação ainda em suspensão. Consiste em bombear o líquido através de um meio filtrante adequado. A cerveja filtrada é então armazenada em tanques, estando assim pronta a ser enviada para o enchimento ^[2].

2.2.4 Enchimento

A etapa final da produção de cerveja é o enchimento, podendo a cerveja ser acondicionada em diferentes embalagens. Antes ou após o enchimento é necessário proceder à estabilização biológica da cerveja. Esta operação poderá ser efetuada a frio (filtração esterilizante) ou a quente recorrendo-se então à pasteurização. No enchimento, a cerveja é acondicionada em diferentes formas (garrafa, barril ou lata) ficando disponível para ser consumida ^[1].

2.3 Dreche

No fabrico de cerveja, são gerados vários resíduos e subprodutos. Os mais comuns são a dreche (figura 7) e leveduras excedentes, que são gerados a partir das principais matérias-primas.

A dreche consiste na fração sólida que resulta da filtração do mosto durante o processo de produção da cerveja, podendo conter até cerca de 30% (m/m) do malte original. Consoante o tipo de cerveja produzida, a dreche pode ser composta apenas por resíduos de malte, ou também podem estar presentes resíduos de outros cereais não maltados eventualmente utilizados durante a brassagem, tais como o milho ou o arroz ^[6]. O valor nutricional da dreche é aproximadamente um quinto, quando comparada com a mesma quantidade de cevada. Isto é compreensível, quando o objetivo do processo de produção de mosto é a remoção da maior quantidade possível de extrato do malte.

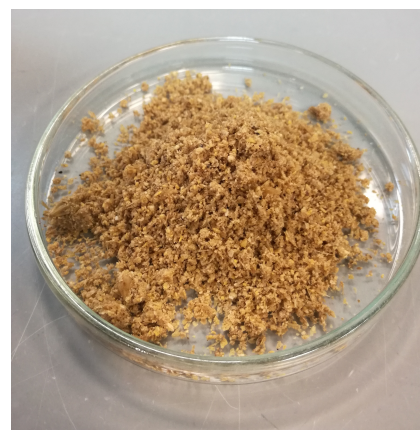


Figura 7 - Dreche resultante do fabrico de Super Bock

Na sequência de diferentes estratégias de separação, a quantidade de dreche gerada poderá chegar a cerca de 85% dos subprodutos totais gerados pelo processo de produção de cerveja. Assim, a dreche é um subproduto acessível de baixo custo e é um recurso potencialmente valioso para a exploração industrial. Estima-se que sejam produzidos cerca de 20 quilogramas de dreche, por cada 100 litros de cerveja fabricada.

Atualmente, a maioria da dreche produzida é utilizada como alimento de baixo valor para animais, com um valor de mercado de cerca de 35 €/t ^[7].

Quanto à sua composição química, a dreche varia de acordo com a variedade de cevada, com a época de colheita e com as condições da maltagem e brassagem. Mesmo assim, a dreche pode ser amplamente classificada como um material lenhinocelulósico e rico em proteínas. Devido a esta riqueza em proteínas e fibras, é considerada portadora de um elevado valor nutricional, sendo, no entanto, utilizada, como já mencionado, principalmente como ração animal. Na tabela seguinte, encontra-se descrita a composição aproximada da dreche:

Tabela 2 - Composição da dreche [2]

Composição	(%)
Proteínas	28,0
Gorduras	8,2
Extrato de azoto livre	41,0
Celulose	17,5
Matéria Inorgânica	5,3

Quando recolhida, após a etapa de filtração, a dreche apresenta um elevado teor de humidade (75-80%). Este facto, aliado à sua composição orgânica e ao elevado conteúdo de açúcares fermentáveis, possibilita uma rápida degradação à temperatura ambiente. A exposição prolongada ao ar favorece a proliferação de microrganismos, causando a perda de nutrientes e a formação de produtos tóxicos. A deterioração da dreche ocorre após um período médio de cerca de 7 a 10 dias, e em condições de temperatura mais elevada (30-40 °C) e humidade, a sua deterioração pode ocorrer em menos de uma semana. Assim sendo, e com vista a colmatar este problema, é aconselhável ou a sua congelação ou a sua desidratação, para posterior análise [6].

Foram já efetuadas várias tentativas para a utilização da dreche na produção de compostos de valor acrescentado, como cultura para microrganismos ou simplesmente como matéria-prima para extração de compostos, como açúcares, proteínas, ácidos e antioxidantes.

Apesar de ainda persistirem dificuldades na extração de polissacarídeos e proteínas deste subproduto, a dreche não deixa de ter um maior potencial económico do que a atual utilização como simples ração animal ou então na sua combustão na produção energética [8] [9].

2.3.1 Extrato Solúvel e Extraível

Durante o processo de produção de mosto, grande parte da massa do malte dissolve-se em água, originando o denominado extrato. Cerca de dois terços (63 a 68%) do material dissolvido no mosto consiste em açúcares fermentáveis. Tendencialmente, a composição dos açúcares existentes no extrato é de 65% maltose, 17,5% de maltotriose, 5% sacarose e 12% de glucose e frutose ^[2].

O extrato solúvel é normalmente quantificado por um método rápido envolvendo a extração por prensagem da dreche numa prensa manual (Figura 8) ou equivalente. A quantidade de extrato na água de prensagem é medida de forma semelhante à de outras fontes de mosto, ou seja, com recurso a um Anton Paar DMA 4500 (Figura 9). O Anton Paar é utilizado quando se pretende determinar

a densidade, o álcool, os extratos primitivo, real e aparente, o grau de fermentação, o valor de pH e a coloração. Com o aparelho Anton Paar DMA 4500 a medição é baseada no princípio comprovado de tubo em U oscilante, assegurando valores de densidade altamente exatos.

A unidade em que é efetuada a medição do extrato é a percentagem de Plato (% P), ou seja, a concentração de sólidos dissolvidos no mosto. A percentagem de Plato é usada para quantificar a concentração do extrato (principalmente açúcares derivados do malte, mas também outros materiais solúveis no mosto) como uma percentagem em massa. Um mosto com 10 %P contém 10 g de extrato por 100 g de mosto. A medição da densidade do mosto é importante para os fabricantes de cerveja, pois é um indicador do potencial teor alcoólico da cerveja ^[10]. As conversões utilizadas para a determinação da %P regem-se pela tabela de Goldiner e Klemann, estando esta disponível no Anexo 1.



Figura 8 - Prensa utilizada na obtenção de extrato solúvel



Figura 9 - Medidor de densidade e álcool Anton Paar DMA 4500

O valor do extrato solúvel estará relacionado principalmente com a eficiência do processo de separação do mosto. As especificações fornecidas pela empresa Carlsberg e pela literatura consultada estipulam que um valor que não ultrapasse os 0,7 %P significa que existiu uma eficaz primeira separação do mosto. Na tabela seguinte estão descritas as principais causas de um valor elevado de extrato solúvel e as suas respetivas soluções:

Tabela 3 - Causas de elevado extrato solúvel [2]

Causa	Efeito no Processo	Solução a adotar
Malte pobremente modificado	Difusão do extrato retido na dreche é mais lento e menos completo; Dificuldade das enzimas de atingir o interior das partículas;	Melhorar modificação do malte
Moagem muito fina	A farinha torna-se demasiado pastosa, tornando a extração do bolo de dreche mais difícil	Usar moagem mais grosseira
Moagem muito grosseira	Definições da moagem erradas; Equipamento desgastado; Moagem muito rápida; Malte muito húmido	Alterar definições; Substituir moinho; Moer mais lentamente
Primeira concentração de mosto muito baixa	Não é utilizada água de extração suficiente	Alcançar primeiras concentrações de mosto mais elevadas (18 a 20%)
Desigual e insatisfatório enchimento das câmaras de filtração	Enchimento muito rápido ou muito lento das câmaras de filtração	A carga de filtrado deve ser apropriada ao tamanho e número de câmaras; Enchimento deve ser efetuado uniformemente; A pressão deve apenas aumentar lentamente
Processo de fabrico muito lento ou impróprio	Extração do malte ou adjuntos inadequada	Usar um processo mais longo e/ou intensivo; Aumentar o tempo de fervura

Além do extrato solúvel, a dreche também contém substâncias que podem ser ainda quebradas, mas que não foram aproveitadas durante a moagem. Este material é denominado extrato extraível.

Para medir a quantidade presente de extrato extraível, uma quantidade de dreche moída é aquecida até à ebulição e fervida com a adição de uma solução enzimática específica constituída por Termamyl 120 L e SAN Super 360 L.

Com este processo, um extrato total de 1,3-1,8 %P é normalmente obtido. O extrato extraível (E_E) é a diferença entre o extrato solúvel (E_S) e o extrato total (Total Available Extract (TAE)), como fica enunciado na seguinte equação:

$$E_E = TAE - E_S \quad (\text{Equação 2})$$

O valor do extrato extraível está relacionado com a qualidade das matérias-primas (modificação e homogeneidade) e com a eficiência do processo de moagem. A especificação da Carlsberg indica que perante um valor que não ultrapasse os 0,7 % significa que existiam uma moagem, brassagem e ação enzimática eficazes.

Na literatura consultada, é aconselhado um acompanhamento com periodicidade trimestral, após implementação dos métodos ^[3] ^[11].

2.4 Métodos de Determinação de Extrato Solúvel e Extraível

Existem diversas entidades que visam a representação dos interesses técnicos e científicos do setor cervejeiro. Destaca-se o *Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission* (MEBAK), entidade representativa da Europa Central, a *American Society of Brewing Chemists* (ASBC) e a *European Brewing Convention* (EBC).

O EBC (figura 10) tem desempenhado um papel preponderante no desenvolvimento de métodos para procedimentos modernos de controlo de qualidade em laboratórios da indústria cervejeira em todo o mundo. Também na análise da dreche foram feitos avanços por parte do EBC, destacando-se os dois métodos que foram analisados ao longo do presente projeto.



Figura 10 - Logótipo do EBC

A European Brewery Convention foi fundada em 1946, movida pela situação crítica relativa à escassez de matérias-primas (especificamente de cevada e lúpulo) que surgiu devido à Segunda Guerra Mundial. O nome European Brewery Convention foi adotado no primeiro congresso da EBC realizado em 1947 na estância balnear holandesa de Scheveningen.

Esta organização pretendeu sobretudo fomentar duas áreas de colaboração entre fabricantes de cerveja na Europa: fortalecimento do seu poder negocial coletivo, assegurando uma quantidade adequada de malte tanto em quantidade como em qualidade e o encorajamento das principais nações cervejeiras, que viram sua indústria a ser devastada pela guerra, a envolver-se novamente na partilha científica ^[12].

2.5 High Gravity Brewing

O *High Gravity Brewing* (HGB) é uma técnica de produção cervejeira que começa com a produção de um mosto dotado de uma maior concentração de extrato. Como existem mais açúcares fermentáveis, uma cerveja com maior teor alcoólico poderá ser produzida. Isto permitirá que a cerveja possa ser diluída a uma percentagem de álcool estipulada. Assim, ao produzir um mosto e cerveja mais concentrados, a capacidade de uma indústria cervejeira poderá ser aumentada.

Num mercado competitivo, o HGB pode aumentar significativamente a capacidade produtiva por meio da utilização de menores tanques de fermentação. O resultado será a redução de custos operacionais com economia de combustível, eletricidade, água e refrigeração. Ao trabalhar em HGB, poder-se-á melhorar a consistência do produto final, particularmente em termos do nível de álcool, mas também melhorar a estabilidade coloidal.

Criar uma bebida com alto teor alcoólico requer uma fermentação ligeiramente mais longa, como seria expectável, podendo existir um decréscimo no rendimento do processo. Pode também existir uma ligeira redução da estabilidade de espuma no produto final. O HGB pode resultar numa maior concentração de compostos aromáticos voláteis produzidos pela levedura.

De modo a controlar melhor o HGB deverá ser efetuado um aumento em %P de pequenos incrementos, ou seja, 0,5 %P, e avaliar cuidadosamente as alterações à medida que avança.

Note-se que não é possível aumentar a concentração de mosto indefinidamente. Os fabricantes de cerveja estão limitados pelo nível de mudança de sabor aceitável. Com a aplicação desta técnica é possível a obtenção de concentrações de mosto entre 14 e 18 %P, podendo mesmo chegar a 22 %P.

O HGB não é uma técnica difícil de fermentação, porém a levedura deve ser tratada com cuidado, pois espera-se que ela funcione num ambiente mais stressante. Embora existam aspetos negativos (efeitos em alguns aspetos da estabilidade da cerveja, combinação de sabores, utilização de lúpulo, etc.), os aspetos positivos são substancialmente superiores (maior capacidade de fabricação, custos reduzidos, mais álcool por unidade de extrato fermentável, melhor estabilidade física e de sabor) ^[14] ^[15].

3 Materiais e Métodos

3.1 Obtenção de Amostras

As amostras analisadas foram retiradas diretamente dos filtros Meura 2001, estando estas ainda húmidas. De modo a obter uma amostra mais representativa do fabrico em questão, é aconselhável a recolha de dreche de vários pontos do depósito da mesma. A quantificação do extrato solúvel foi efetuada imediatamente, seguindo a amostra para uma estufa a 62 °C, onde deverá permanecer entre dois a três dias.

3.2 Método de Obtenção do Extrato Solúvel

3.2.1 Método Direto

O extrato solúvel foi obtido de uma forma direta, sendo registado o valor de percentagem de Plato obtida. A figura seguinte descreve a metodologia que foi adotada de modo a obter e quantificar o extrato solúvel presente na dreche.

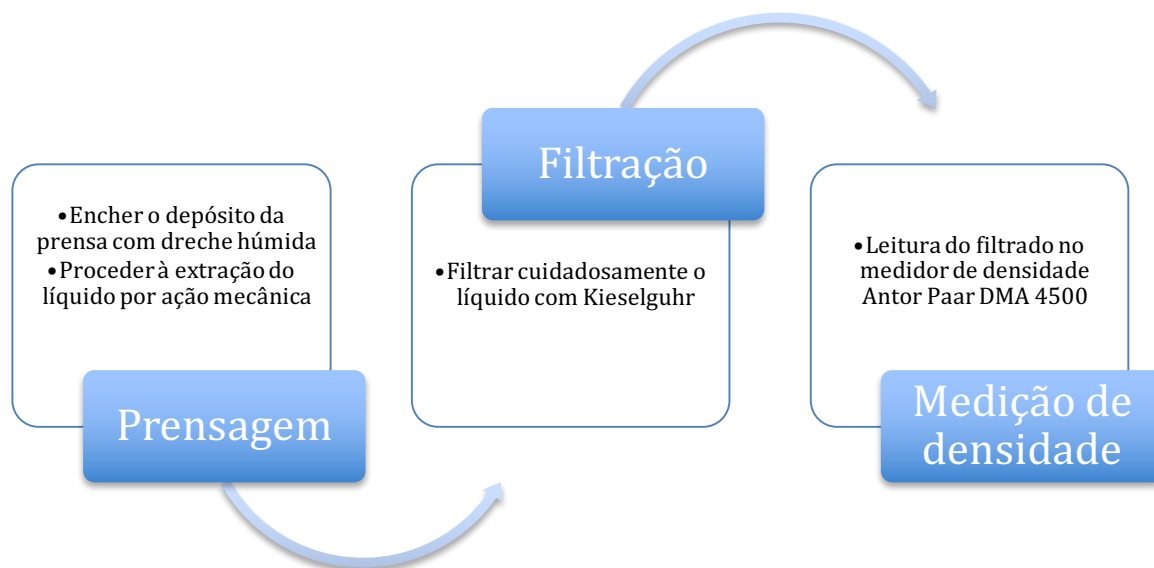


Figura 11 - Esquema representativo da metodologia adotada na quantificação do extrato solúvel

3.2.2 Método EBC

A literatura consultada, assim como as especificações da empresa Carlsberg aconselham a quantificação do extrato solúvel pelo método direto, mas existe ainda uma metodologia sugerida pelo EBC. O seguinte diagrama pretende descrever a metodologia que foi adotada nesta quantificação.

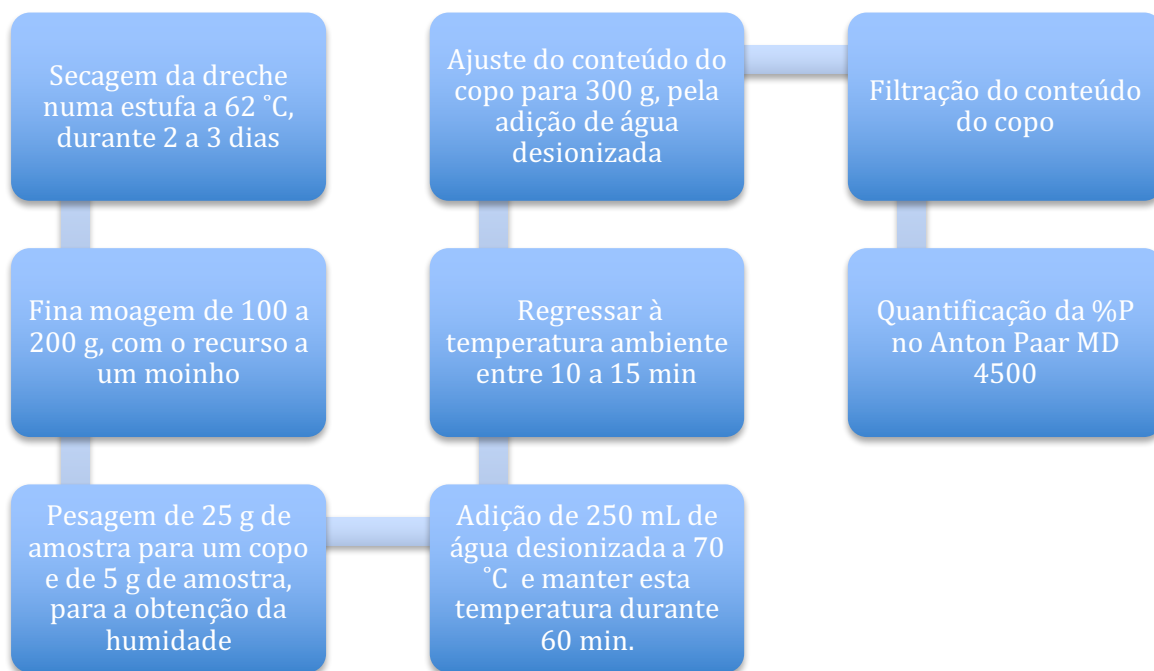


Figura 12 - Esquema representativo da metodologia do EBC na quantificação do extrato solúvel

É de salientar que a abertura do moinho usada foi de 0,2 mm, de modo a obter-se a granulometria pretendida e a promover o máximo de área de contacto para a extração dos açúcares pretendidos.

A humidade foi obtida pela diferença de massa entre a amostra inicial e a amostra sujeita a uma temperatura superior a 100 °C, no interior de uma estufa, durante um período superior a 3 horas.

Após concluída a análise e obtido o valor de extrato em Anton Paar e o valor da humidade da amostra, foi necessário o seguinte cálculo para a obtenção do valor do extrato solúvel sobre matéria tal e qual ($E_S(\%P), smtq$):

$$E_S(\%P), smtq = \frac{(275 + 0,25M) \times P \times 4}{100 - P} \quad (\text{Equação 3})$$

em que P é o extrato no filtrado em %P e M é a humidade da dreche previamente seca em % (m/m).

De modo a obter-se o extrato solúvel sobre matéria seca ($E_S(\%P), sms$), houve necessidade de usar o cálculo da equação 4.

$$E_S(\%P), sms = \frac{E_{S,smtq} \times 100}{100 - M} \quad (\text{Equação 4})$$

Os resultados do extrato solúvel deverão ser apresentados com uma casa decimal.

3.3 Método de Obtenção do Extrato Extraível

Através da metodologia seguinte obteve-se o extrato total presente na dreche. Relembra-se, por isso, que o extrato extraível é determinado pela equação 2.

A primeira etapa, semelhante à metodologia EBC de quantificação do extrato solúvel, consistiu na secagem da dreche numa estufa a 62 °C, durante 2 a 3 dias. Após secagem da dreche, procedeu-se a uma fina moagem de 100 a 200 g, com o recurso a um moinho de discos, salientando-se que a abertura do moinho foi de 0,2 mm, de modo a obter-se a granulometria pretendida.

Seguiu-se a pesagem de 25 g de amostra para um copo de latão, assim como a pesagem em duplicado de 5 g de amostra, para a obtenção da humidade da dreche. De seguida, procedeu-se à metodologia esquematizada na figura 13.

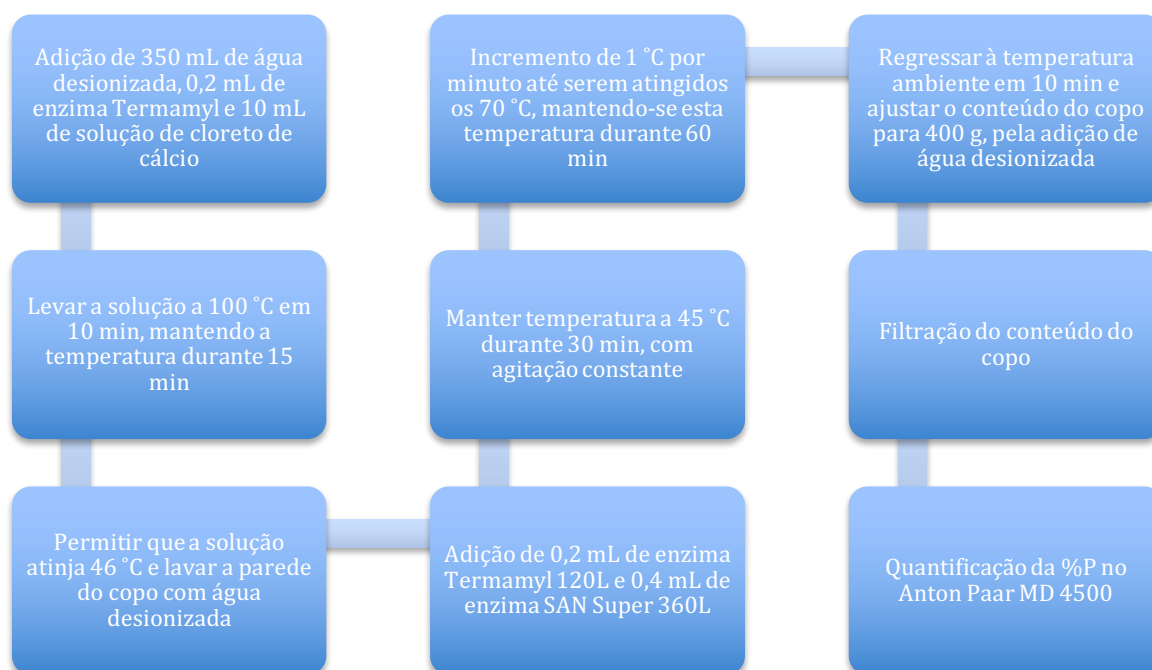


Figura 13 - Esquema ilustrativo da metodologia do EBC na quantificação do extrato extraível

A Termamyl 120 L (figura 14), comercializada pela Novozymes (a ficha de segurança da enzima pode ser consultada no anexo 2 ^[16]), é uma α -amilase termoestável produzida através da modificação genética de uma estirpe de *Bacillus licheniformis*.

A solução enzimática SAN Super 360L, comercializada pela Novozymes (a ficha de segurança da solução pode ser consultada no anexo 2) é constituída por α -amilases, glucoamilases e proteases.

O cloreto de cálcio (CaCl_2) é um dos principais sais utilizados no aumento dos níveis de cálcio na cerveja.

Níveis adequados de cálcio na cerveja podem diminuir o pH, preservar as enzimas, aumentar o rendimento do extrato, melhorar o crescimento e a floculação das leveduras e reduzir a cor. Acredita-se ainda que o ião cloreto promove a doçura ou suavidade do paladar dentro do perfil de sabor da cerveja. A maioria das fontes de água contêm já uma quantidade substancial cloreto de cálcio dissolvido.

As alterações de temperatura impostas à solução foram realizadas com recurso a um banho de maceração (figura 15), sendo necessário manter a agitação constante entre 80 e 100 rotações por minuto.



Figura 14 - Representação da enzima Termamyl da Novozymes



Figura 15 - Banho de Maceração (Brassin)

O seguinte gráfico permite elucidar os patamares de temperatura seguidos durante o método EBC para a determinação do extrato extraível.

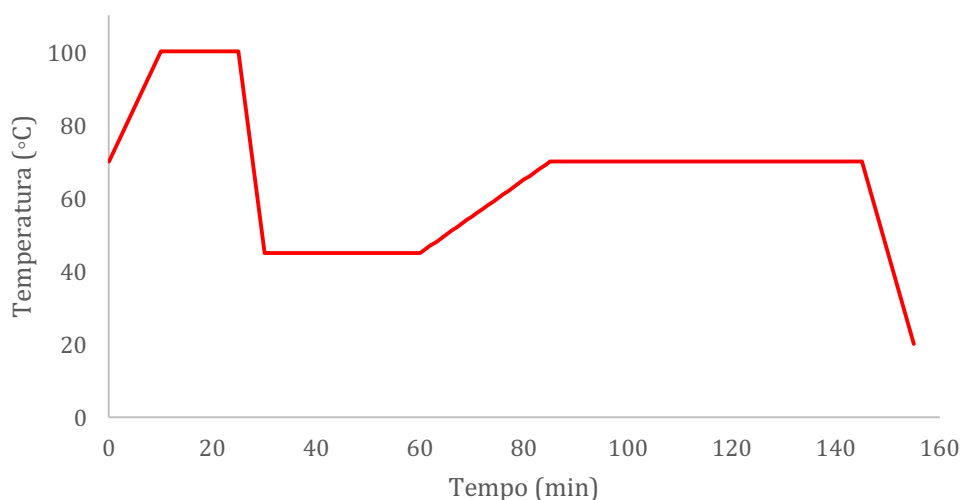


Figura 16 - Variação de temperatura na determinação do extrato extraível

Antes do início da implementação do método em questão, foi efetuado um acompanhamento e calibração do banho de maceração (Brassin) de modo a verificar se os patamares de temperatura eram seguidos criteriosamente com um desvio máximo de ± 0.2 °C.

Foi necessária a preparação de uma solução com uma massa de 100 g, contendo 0,4 mL de enzima Termamyl, 0,4 mL de solução enzimática SAN Super e 10 mL de cloreto de cálcio. Também esta solução foi analisada em Anton Paar para que o seu valor de extrato possa ser descontado nos cálculos.

Após concluída a análise e obtido o valor de extrato em Anton Paar, assim como o valor da humidade da amostra, foi necessário o seguinte cálculo para a obtenção do valor do extrato total sobre matéria tal e qual ($TAE(\%P), smtq$):

$$TAE(\%P), smtq = \left[\frac{(400 - 25 + 0,25M - PO) \times P}{100 - P} - PO \right] \times 4 \quad (\text{Equação 5})$$

em que P é o extrato no filtrado em % de Plato, PO é o extrato da solução de correção e M é a humidade da dreche previamente seca em % (m/m).

De modo a obter-se o extrato total sobre matéria seca ($TAE(\%), sms$), foi ainda necessário mais um cálculo, explanado na equação 6.

$$TAE(\%P), sms = \frac{TAE, smtq \times 100}{100 - M} \quad (\text{Equação 6})$$

Os resultados do extrato extraível deverão ser apresentados com uma casa decimal. De notar que o resultado obtido com a brassagem efetuada é o de TAE, sendo necessário recorrer à equação 2 de modo a obter o resultado de extrato extraível.

4 Resultados e Discussão

4.1 Análise por Tipo de Cerveja

A primeira abordagem adotada em relação ao presente projeto consistiu na análise e comparação dos vários tipos de cerveja produzidos na Sala Nordon do Super Bock Group. Foram recolhidas amostras de dreche do filtro 1, resultante da fabricação de cervejas Super Bock, Cristal e Carlsberg, de modo a verificar os níveis de extrato solúvel e extraível.

Neste ponto é necessário salientar que são realizados, por norma, 12 fabricos de mosto por dia na Sala Nordon. A sua numeração é sequencial e iniciada no começo de cada ano. De modo a adimensionalizar a escala presente nos seguintes gráficos, e com vista a permitir uma melhor visualização dos resultados, irão ser anexadas tabelas com a identificação dos fabricos e respetiva data (Anexo 3). A recolha de amostras tentou ser o mais abrangente possível ao longo do período de estágio.

É ainda necessário realçar a diferença entre as 3 cervejas em estudo. A composição em percentagem de malte é superior na cerveja Carlsberg, seguindo-se a Super Bock e por fim a Cristal, ou seja, a cerveja Cristal possui uma maior percentagem de cereais não maltados. É já prática comum há muitos anos a adição de cereais não maltados como milho, cevada e arroz à fabricação da cerveja de modo a obter hidratos de carbono fermentáveis pela levedura. Algumas das razões para este facto incluem uma mais fácil obtenção destas matérias primas, modificações sensoriais no produto final, mas sobretudo a diminuição de custos. Em média, o uso de cerca de 30 % de *grits* de milho na formulação da cerveja, poderá resultar na redução de 8 % nos custos de produção (este número pode variar dependendo dos preços locais das matérias-primas e outros custos de produção). Contudo, esta adição de cereais não maltados traz algumas dificuldades acrescidas ao processo. Será necessária a instalação de uma caldeira extra de modo a permitir a gelatinização do amido nestes cereais num curto espaço de tempo. Uma outra desvantagem advém de um poder enzimático muito baixo nestas matérias-primas, que apenas poderá ser ultrapassado com a adição de soluções enzimáticas. ^[17].

Nos seguintes gráficos está representada a percentagem de Plato presente no extrato solúvel, nos três tipos de cerveja, estando a vermelho o limite superior desejável, que se relembra ser 0,7 %P.

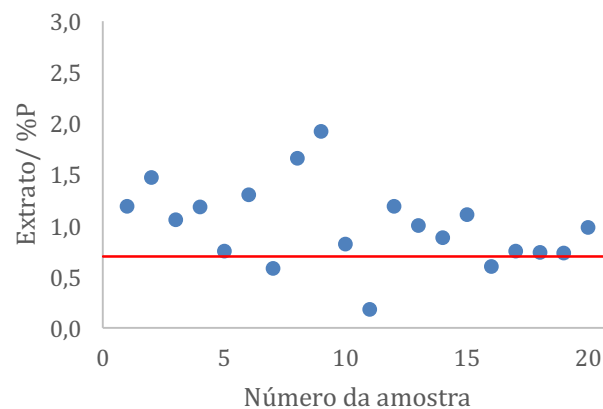


Figura 17 - Valores de percentagem de Plato no extrato solúvel da Super Bock

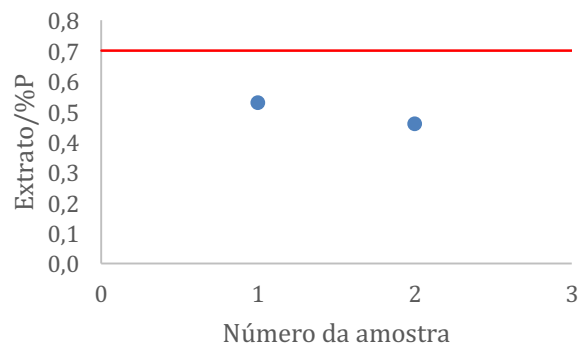


Figura 18 - Valores de percentagem de Plato no extrato solúvel da Cristal

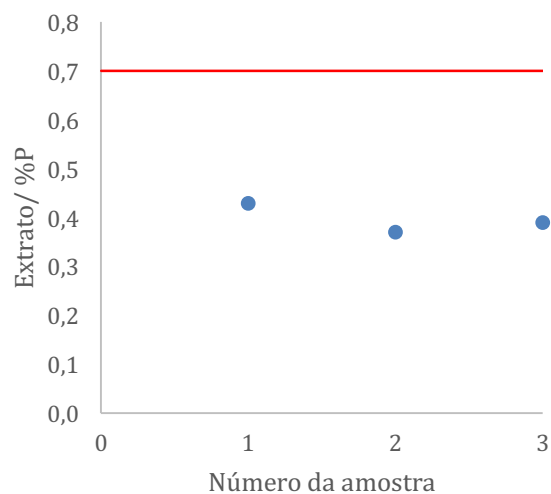


Figura 19 - Valores de percentagem de Plato no extrato solúvel da Carlsberg

Após análise dos gráficos constata-se que tanto a cerveja Carlsberg, como a Cristal apresentam valores de extrato solúvel dentro de especificação. Quando já se aborda o caso da Super Bock, a cerveja produzida em maior quantidade, verifica-se que o extrato demonstra uma clara tendência para se situar em valores acima do limite recomendado. Também a variabilidade de resultados obtidos para a Super Bock se demonstra elevada, não obstante de apresentar um maior número de amostra face às duas outras cervejas.

Nos seguintes gráficos está representado a percentagem de Plato presente no extrato extraível, nos três tipos de cerveja.

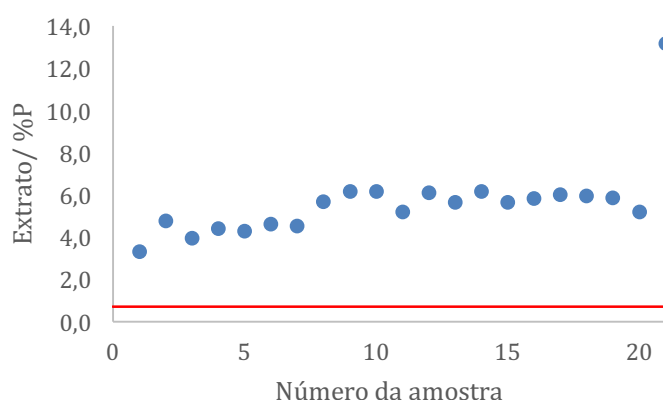


Figura 20 - Valores de percentagem de Plato no extrato extraível da Super Bock

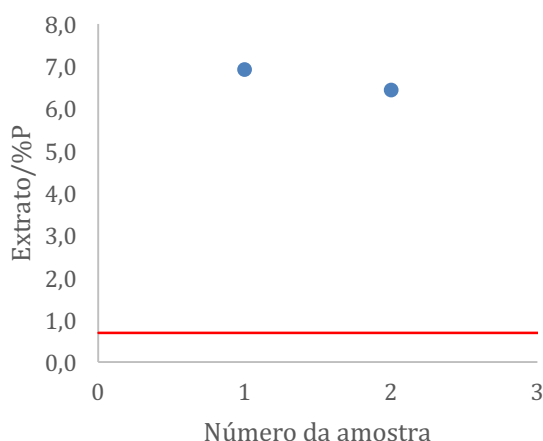


Figura 21 - Valores de percentagem de Plato no extrato extraível da Cristal

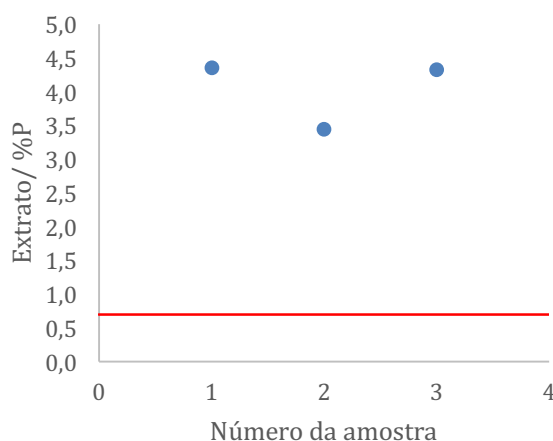


Figura 22 - Valores de percentagem de Plato no extrato extraível da Carlsberg

As ferramentas básicas e indispensáveis na análise dos resultados são a média, $\bar{X}$, e o desvio padrão, σ .

A análise de resultados resultou no resumo descrito na tabela 4.

Tabela 4- Dados estatísticos para vários tipos de cerveja

Tipo de cerveja	Média Extrato Solúvel (%P)	Desvio padrão Extrato Solúvel	Média Extrato Extraível (%P)	Desvio padrão Extrato Extraível
Super Bock	1,1	0,5	5,6	1,9
Cristal	0,5	0,1	6,7	0,3
Carlsberg	0,4	0,0	4,0	0,5

Existem diversas razões possíveis para os resultados de extrato obtido. Uma delas prende-se com problemas na matéria-prima rececionada. Nos primeiros dias de Maio, começaram a ser reportados problemas de colmatação dos filtros Meura 2001 (correspondendo às amostras posteriores à 8 no caso da cerveja Super Bock). Após análise do malte rececionado, foi constatado, por mera inspeção visual, que existia um maior número de palhas e grãos partidos do que aqueles que existiam normalmente. As palhas consistem em material da qual não resultará uma obtenção de extrato necessário à fermentação, sendo por isso prejudicial ao rendimento do processo. Este material contribuirá também para uma mais rápida colmatação dos filtros utilizados na Sala Nordon. Foi efetuada triagem (processo que consiste na separação por tamanho de malte com recurso à vibração de crivos de diferentes dimensões) ao malte que apresentava os problemas descritos e verificou-se que efetivamente os resultados estavam fora da especificação pretendida. Nas figuras seguintes pode ser observada uma amostra de malte,

onde se denotam palhas em grande quantidade e uma imagem das palhas recolhidas após colmatação do filtro.



Figura 24 - Palhas em excesso no malte



Figura 23 - Palhas após colmatação do filtro

Como é evidente, perdas de extrato representam um custo extra de relevo. Por exemplo, para uma indústria cervejeira que usa 30 000 toneladas de malte por ano (cerca de 2 milhões de hectolitros / ano) a um preço de malte de 400 € / t, uma perda de 1 % de extrato representa 120 000 € anualmente ^[5].

Estas condições pouco desejáveis do malte recebido condicionará a filtração do mosto, ao colmatar os filtros, tendo implicações imediatas no extrato solúvel. A existência de palhas implicará uma fraca obtenção de extrato, o que se correlacionará com um extrato extraível mais elevado.

Foi também detetado um problema na caldeira onde ocorre a mistura do malte moído com água. Verificou-se que porções consideráveis de malte se aglomeravam à tona, não existindo a devida extração de açúcares dessa porção de matéria-prima.

Uma outra razão para o aumento do extrato extraível ao longo do tempo, poderá prender-se com o facto de a instalação estar a trabalhar em HGB, sendo por isso expectável uma maior perda de rendimento no processo.

O aumento verificado de extrato extraível também se pode dever aos ajustes efetuadas à metodologia de quantificação do TAE, existindo por isso um aumento no extrato passível de ser

retirado. Foi efetuado, no entanto, uma análise de repetibilidade (efetuada ao longo de vários ensaios em dias diferentes) que provou que os resultados obtidos se mantinham constante.

4.1.1 Estabilidade do Branco

Importa referir que ao longo das 10 brassagens de dreche efetuadas, foi obtido um valor consistente para a solução de correção (branco), contendo 0,4 mL de enzima Termamyl, 0,4 mL de solução enzimática SAN Super e 10 mL de cloreto de cálcio. A média dos valores do branco foi de 0,93 %P com um desvio padrão de 0,02. É possível comprovar que mantendo as soluções enzimáticas em local refrigerado e preparando a solução de CaCl_2 mensalmente, se obtém um valor constante de branco a descontar no cálculo de quantificação do TAE.

4.2 Análise Comparativa aos Filtros

Seguiu-se uma comparação dos dois filtros existente na Sala Nordon. O filtro 2 é mais recente, tendo sido instalado em 2013 de modo a aumentar a capacidade da Sala Fabrico de 12 para 20 toneladas de malte equivalente. Esta nova instalação exigiu a instalação de bombas de envio de mosto das caldeiras de empastagem e caldas para o novo filtro e de bombas de envio de mosto do filtro novo para o tanque tampão, assim como a colocação de tubagem de envio de mosto das caldeiras de empastagem e caldas para o novo filtro e de tubagem de envio de mosto do filtro novo para o tanque tampão.

No gráfico seguinte, fica descrito o acompanhamento comparativo efetuado aos dois filtros Meura 2001.

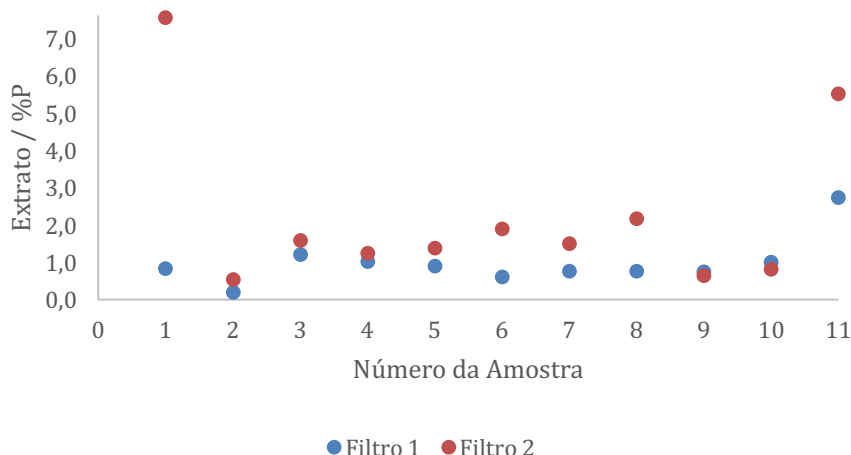


Figura 25 - Comparação dos valores de percentagem de Plato no extrato solúvel nos dois filtros

Como ficou evidenciado no gráfico anterior, existe uma clara discrepância nos valores de %P presentes no extrato solúvel entre os dois filtros no fabrico 671 (Amostra 1). Logo após prensagem da dreche ficou evidente que esta diferença existiria, por mera inspeção visual. Esta disparidade visual pode ser confirmada na figura 26.

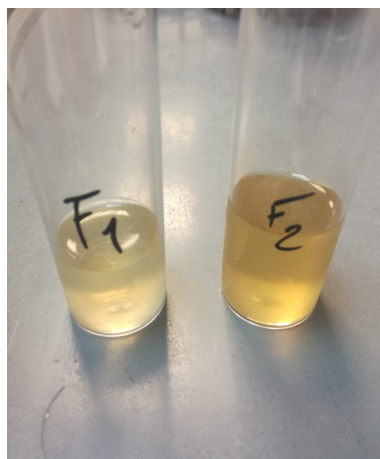


Figura 26 - Extrato Solúvel do Fabrico 671

F₁) Amostra retirada do filtro 1; F₂) Amostra retirada do filtro 2

Verifica-se então que o método de determinação do extrato solúvel é uma maneira rápida e eficaz de detetar eventuais discrepâncias entre o funcionamento dos dois filtros. Apesar da clara diferença observada na primeira amostra, é também possível afirmar que o filtro 2 apresenta constantemente valores de extrato solúvel superiores ao filtro 1. Negligenciando as amostras 1 e 11, verifica-se que o valor de extrato solúvel do filtro 2 é, em média, 0,35 %P superior.

É de salientar que as amostras 9 e 10 foram recolhidas após a realização de CIP aos dois filtros, o que resultou numa aproximação considerável nos valores de extrato solúvel.

Seguiu-se a comparação do extrato extraível das dreches retiradas dos dois filtros. Os resultados obtidos encontram-se representados na figura 27.

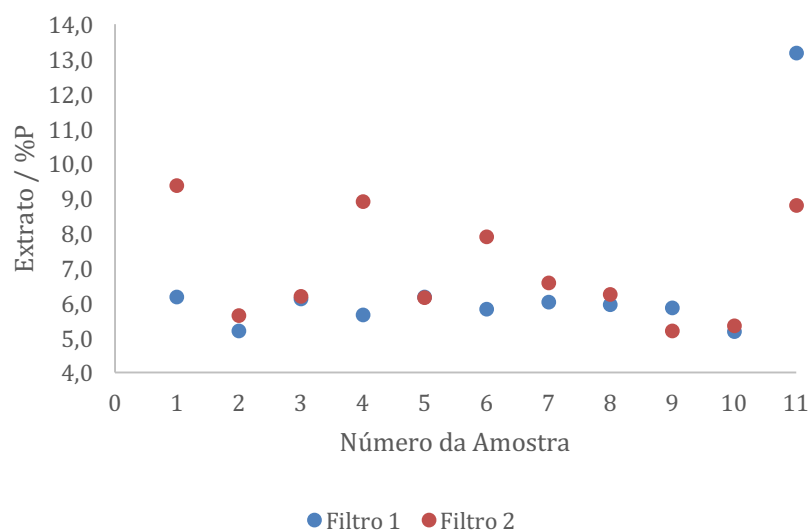


Figura 27 - Comparação dos valores de percentagem de Plato no extrato extraível nos dois filtros

Pode-se verificar que os extratos obtidos para o filtro 1 apresentam menos oscilações, assim como uma menor média de valores. É de relevar a diferença de valores para a amostra 1, que apresenta também um valor de extrato extraível elevado.

Já os valores obtidos para a amostra 11 (e amostra 21 das figuras 17 e 20) são justificados por uma má moagem do malte. Esta moagem ficou logo evidente na recolha da dreche dos dois filtros, sendo mais notória no filtro 1 (figura 28). A maior dificuldade no que toca à moagem prende-se com a cevada, sendo esta um grão mais duro por não passar pelo processo de maltagem. O processo de moagem será crucial no aumento de área de contacto entre o amido da cevada e a água, potenciando profundamente a obtenção de um valor de extrato fermentável francamente superior.

Esta fraca moagem revelou-se mais notória nos valores de extrato extraível do que nos valores de extrato solúvel, visto que afetará a brassagem e a atividade enzimática.



Figura 28 - Exemplo de má moagem do malte

Na seguinte tabela ficarão resumidos os valores comparativos para os dois filtros, o que toca a ambos os extratos.

Tabela 5 - Dados estatísticos para os dois filtros

Filtro	Média Extrato Solúvel (%P)	Desvio padrão Extrato Solúvel	Média Extrato Extraível (%P)	Desvio padrão Extrato Extraível
1	0,9	0,6	6,3	2,2
2	2,2	2,1	6,8	1,5

Constata-se que existe uma clara discrepância ao nível dos valores dos dois extratos, obtendo-se valores mais elevados no filtro 2. Esta diferença é sobretudo evidente no que toca ao extrato solúvel, algo compreensível visto que a obtenção deste extrato se relaciona com a eficiência da etapa de filtração do mosto. Os valores elevados de extrato solúvel poderão dever-se a um desigual e insatisfatório enchimento das câmaras de filtração ou ainda a uma quantidade de água de lavagem insuficiente.

4.3 Extrato Solúvel e Extrato das Últimas Águas

Já é efetuada, no Laboratório Central, a determinação do extrato presente nas denominadas últimas águas ou mosto fraco. O extrato das últimas águas consiste na densidade de extrato do

mosto no final da etapa da lavagem, sendo recolhidas as amostras no final da segunda compressão dos filtros Meura 2001. Quanto maior for o volume de água usado durante esta lavagem, mais elevada será a eficiência da recuperação de extrato, sendo de salientar que a concentração inicial de extrato do mosto definirá a quantidade limite de água a ser utilizada durante a lavagem do bolo que se forma ao longo da filtração.

As especificações que delimitam a concentração do extrato nas últimas águas, estão definidas entre 0,8 e 1,2 %P. É ainda necessário que o valor de pH da solução se encontre próximo de 6 de modo a evitar um aumento da quantidade de polifenóis no mosto ^[18].

Procedeu-se então à comparação do extrato de últimas águas com o extrato solúvel, de modo a averiguar possíveis diferenças, visto que o extrato solúvel não é mais que a parte líquida da dreche após lavagem.

Nas figuras 29 e 30 estão descritos os acompanhamentos dos valores obtidos para o extrato de últimas águas e o valor de extrato solúvel nos dois filtros.

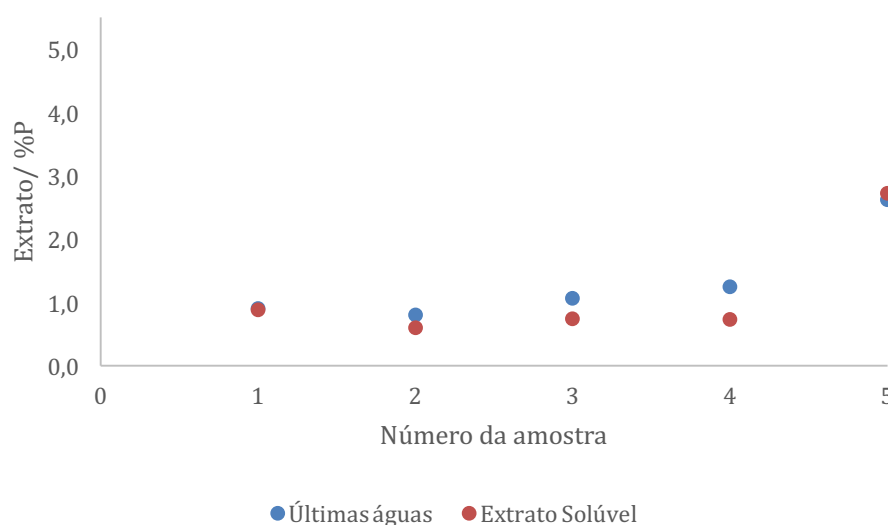


Figura 29 Comparação da percentagem de Plato nas últimas águas e no extrato solúvel no filtro 1

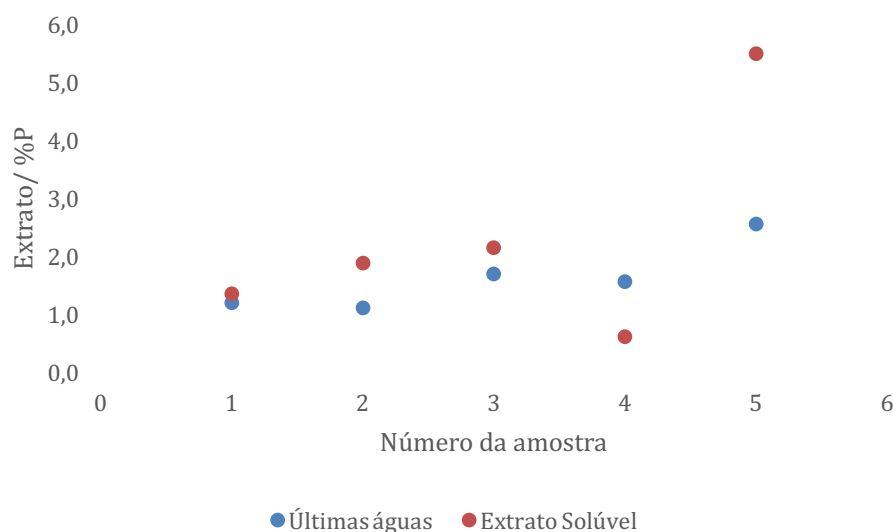


Figura 30 - Comparação da percentagem de Plato nas últimas águas e no extrato solúvel no filtro 2

Para o filtro 1 a média dos valores de extrato nas últimas águas é de 1,33 %P e a média de valores para extrato solúvel é de 1,13% P. Já para o filtro 2, a média dos valores de extrato nas últimas águas é de 1,63 %P e a média de valores para extrato solúvel é de 2,30% P. Verifica-se que a existe uma aproximação de valores de extrato solúvel e extrato presente nas últimas águas para o filtro 1, apesar de ser notória uma clara tendência para o extrato nas últimas águas ser ligeiramente superior. Para o caso do filtro 2, esta tendência já se inverte. Os valores para os dois tipos de extrato afastam-se mais, sendo consideravelmente superior o extrato solúvel. Fica também evidente, após consulta da figura 30, que podem existir flutuações consideráveis em relação às percentagens de extrato, sendo este facto mais explicito nas amostras 4 e 5.

Os valores das figuras 29 e 30 vêm confirmar a discrepância já descrita para os dois filtros. Verifica-se que o valor de extrato solúvel, ou seja, açúcares não aproveitados é superior ao extrato aproveitado no mosto fraco. Uma filtração mais eficiente no filtro 2 poderia inverter esta tendência, por exemplo através de uma lavagem das câmaras de filtração com um maior volume de água.

Face a estes valores, pode-se afirmar que ambas as análises apresentam semelhanças, podendo-se complementar mutuamente. Será necessário um posterior e contínuo acompanhamento para verificar se as tendências verificadas neste trabalho se mantêm.

Com os dados obtidos é possível concluir que existe uma porção de extrato perdida na etapa de filtração nos dois filtros, mas sobretudo no filtro 2.

4.4 Comparação de Métodos de Determinação de Extrato Solúvel

Apesar de o método recomendado pela Carlsberg e pela literatura consultada ser o método direto de prensagem, pretendeu-se avaliar também o método EBC. Relembra-se que o método EBC consiste na adição de água desionizada a uma determinada quantidade de dreche (25 g) e levar a mistura a uma temperatura de 70°C, mantendo-se esta temperatura durante 60 minutos. No seguinte gráfico estão representadas amostras de dreche de Super Bock com uma gama de humidade de 4,4-6,7 % (m/m).

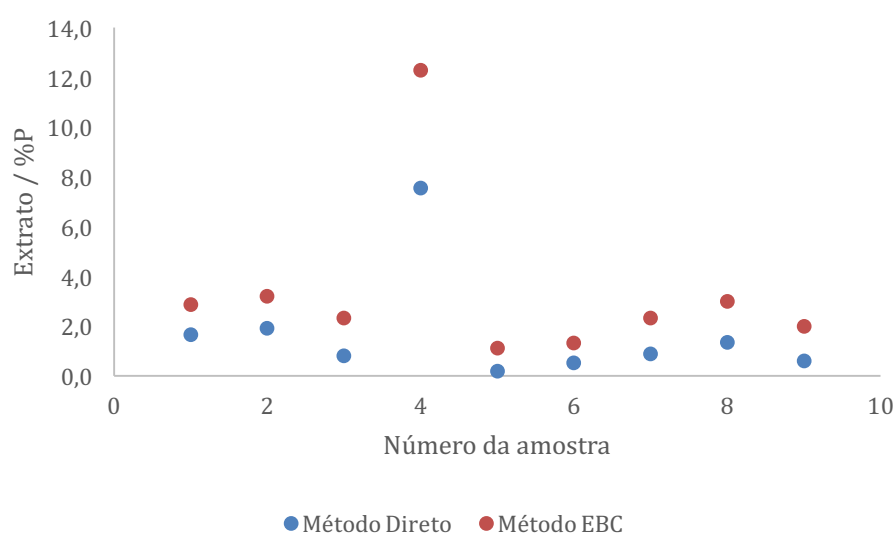


Figura 31 - Método direto de quantificação de extrato solúvel vs. Método EBC

Como se pode verificar, a tendência de ambos os métodos é idêntica, apesar de serem obtidos extratos superiores com o método EBC. Esta diferença é compreensível face ao conhecimento dos dois métodos. No método direto é efetuada uma simples prensagem, quando no método EBC existe uma extração mais prolongada, com recurso ao aumento de temperatura ao longo de uma hora. Será então expectável uma maior concentração de açúcares dissolvidos no líquido a analisar.

Assim sendo, conclui-se que apesar de ser preferencial o uso do método direto, também o método EBC permitirá retirar conclusões semelhantes, quando feito um acompanhamento de comparação regular.

4.5 Congelação de amostras para posterior análise

Poderá existir a necessidade de posterior análise da dreche, em detrimento de análises de maior importância. Com a vista a colmatar e antecipar tal necessidade, congelaram-se amostras durante cerca de um mês para comparação de resultados. Esta congelação foi efetuada logo após a recolha da amostra ainda húmida, em sacos plásticos.

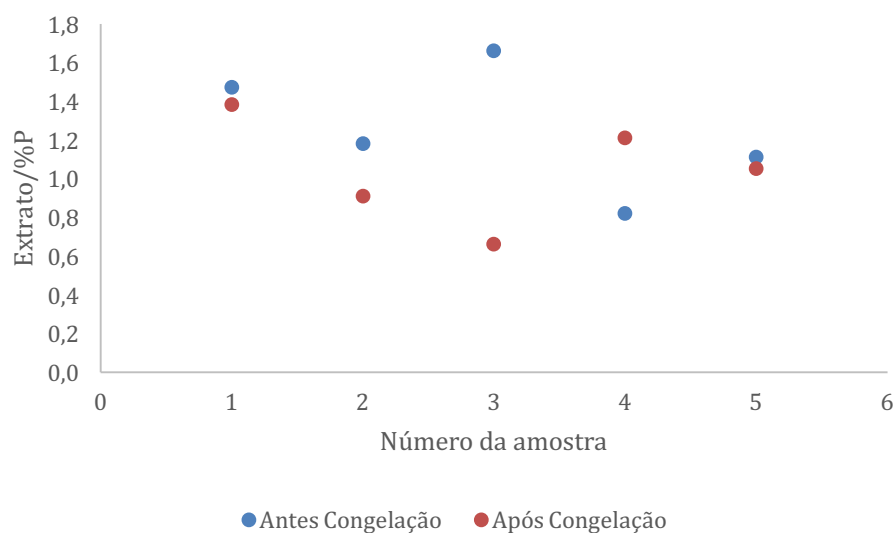


Figura 32 - Comparação dos valores de percentagem de Plato do extrato solúvel antes e após congelação

Analisando o gráfico representativo da variação de valores para o extrato solúvel, conclui-se que para a maior parte das amostras analisadas, o valor de extrato diminui, sendo esta diminuição substancial para a amostra 3. É de salientar a amostra 4 por contrariar a tendência das restantes amostras.

Uma possível causa para a diferença de resultados obtidos pode-se prender com a incorporação de água na amostra durante a congelação. Uma outra causa pode ser a simples deterioração da dreche, mesmo que congelada, ao longo do período de congelação.

Uma possível solução, passível de ser implementada, seria o armazenamento da amostra num saco sob vácuo. Eliminar-se-ia a problema de incorporação de humidade na amostra. Porém, com as condições disponíveis atualmente no Laboratório, esta solução não será possível de concretizar.

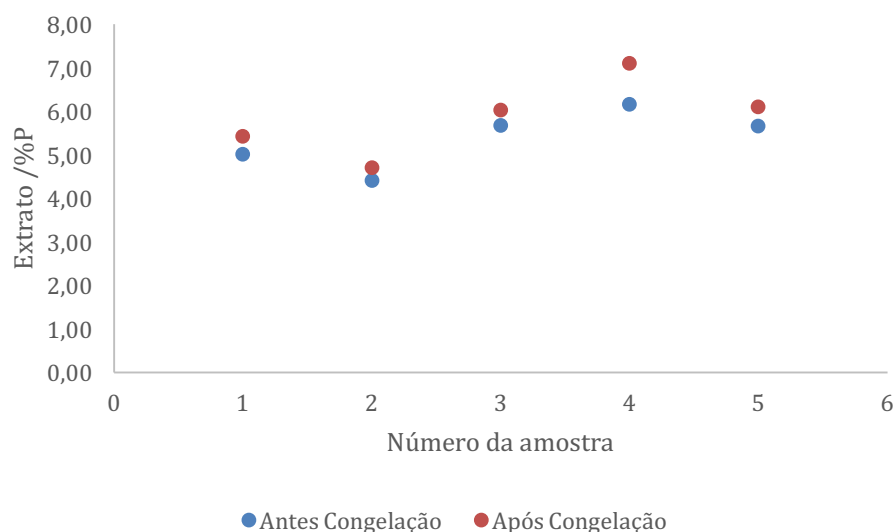


Figura 33 - Comparação dos valores de percentagem de Plato do extrato extraível antes e após congelação

Pode-se verificar que para a determinação do extrato extraível, a tendência dos dois valores inverte-se face ao extrato solúvel. Existe uma clara predisposição para a obtenção de extratos superiores após congelação.

À luz dos resultados obtidos para os dois extratos, aconselha-se que a amostra não seja congelada sob pena de quantificação de valores deturpados, sendo assim preferível que as amostras sejam analisadas após remoção dos filtros Meura 2001.

4.6 Precisão das Metodologias Implementadas

A precisão consiste num termo que visa avaliar a dispersão dos resultados entre ensaios interdependentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. As duas formas mais comuns de determiná-la são através da repetibilidade e reprodutibilidade, sendo geralmente expressas como desvio padrão ^[19] ^[20].

4.6.1 Repetibilidade

Esta propriedade consiste no grau de concordância entre resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurando, efetuadas em condições de repetibilidade, ou seja, mantendo todas as condições idênticas (mesmo laboratório, analista, equipamento, tipo de reagentes e tempo de análise).

O limite de repetibilidade (r) é o valor abaixo do qual se deve situar, com uma probabilidade específica (geralmente 95%), a diferença absoluta entre dois resultados de ensaio (X_i , X_{i-1}), tendo em conta as condições referidas acima. O mesmo permite ao analista decidir se a diferença dos resultados obtidos entre os duplicados de uma mesma amostra, em condições de repetibilidade, é ou não significativa.

Para um nível de confiança de 95%, o r é calculado através da seguinte expressão:

$$r = 2,8 \times \sqrt{\sigma_{ri}^2} \quad (\text{Equação 7})$$

Assim sendo, consideram-se aceitáveis os resultados de duas determinações efetuados em condições de repetibilidade se se verificar a seguinte condição:

$$|X_i - X_{i-1}| \leq r \quad (\text{Equação 8})$$

Caso a amplitude entre os dois ensaios seja superior ao limite, nesse caso, deve-se numa primeira instância fazer uma análise crítica aos resultados e, caso seja necessário, proceder à repetição dos ensaios.

O coeficiente de variação de repetibilidade (CV) expresso em percentagem, é dado por:

$$CV = \frac{\sigma_{ri}}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (\text{Equação 9})$$

Inicialmente, começou-se por avaliar a presença de outliers, recorrendo para tal ao teste de Grubbs, para um nível de confiança de 95% e para $n-1$ graus de liberdade.

O teste de Grubbs é um teste estatístico que permite avaliar e analisar a dispersão dos valores de um determinado conjunto de medições segundo uma distribuição normal. Na prática, o mesmo permite verificar a existência de valores discrepantes nas extremidades do conjunto de dados, cujos valores suspeitos corresponderão assim aos máximos e mínimos da medição. O teste de Grubbs é calculado pela equação 10.

$$G_{exp} = \frac{|x_n - \bar{x}|}{\sigma} \quad (\text{Equação 10})$$

em que x_n representa o valor suspeito, máximo ou mínimo;

Para a amostra selecionada verificou-se que o valor da análise obtida era inferior ao valor crítico de Grubbs, e por isso, nenhum dos valores foi excluído.

Na seguinte tabela encontram-se representados os valores de TAE obtidos, resultando de diferentes análises:

Tabela 6 - Valores de TAE obtidos para o fabrico 538

Medição	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TAE (%P)	7,3	7,5	8,1	7,9	8,1	7,9	7,9	7,5	6,8	7,2

Após a obtenção dos resultados, estes foram devidamente tratados estatisticamente, resultado a tabela 7.

Tabela 7 - Dados estatísticos de repetibilidade

Dados de repetibilidade	Fabrico 538
Média (%P)	7,6
Desvio padrão	0,4
Limite de Repetibilidade	1,2
CV (%)	5,6

Através da consulta dos valores da tabela 7 verifica-se que existe repetibilidade para os 10 ensaios realizados à mesma amostra, de acordo com a equação 8. Esta constatação permite depreender que caso a metodologia seja seguida cuidadosamente, existirá repetibilidade entre resultados consecutivos realizados pelo mesmo operador.

4.6.2 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade encontra-se normalmente associada à precisão de um método que foi realizado sob diferentes condições, ou seja, usando o mesmo método de teste na mesma amostra, mas variando as diferentes condições, como o laboratório e os operadores.

De verificar a reprodutibilidade dos métodos recorreu-se a uma abordagem de comparação e validação interlaboratorial. Para tal, fez-se uso de um divisor de amostras, de modo a obter uma divisão mais homogénea, enviando-se um total de 8 amostras para o Laboratório Central do grupo Carlsberg sediado em França. Este laboratório utilizou métodos EBC para a determinação de humidade, extrato solúvel e extrato total, não sendo assim possível comparar o método direto de prensagem. Os resultados desta comparação estão descritos na seguinte tabela:

Tabela 8 - Comparação Interlaboratorial

Número do Fabrico	Filtro	Resultados LC			Resultados Carlsberg		
		Humidade (%m/m)	Extrato solúvel sms (%P)	Extrato Total sms (%P)	Humidade (%m/m)	Extrato solúvel sms (%P)	Extrato Total sms (%P)
671	1	5,8	2,5	8,0	4,5	2,3	9,0
671	2	4,4	12,9	17,9	4,0	12,6	19,1
784	1	6,7	2,5	8,0	6,6	2,8	9,2
784	2	6,4	3,2	8,6	6,4	3,2	9,5
824	1	5,0	2,1	7,6	4,6	2,3	8,7
824	2	4,8	5,4	10,8	4,3	5,3	11,9
843	1	5,2	2,4	8,6	4,8	2,5	9,1
843	2	5,2	4,2	9,6	4,7	4,0	10,7

Face à análise cuidada dos resultados verifica-se sobretudo uma concordância para os valores obtidos para o extrato solúvel, um método mais simples de executar. Quando se analisa já o extrato total (que se lembra ser a soma do extrato solúvel e do extraível), verifica-se que o laboratório da Carlsberg obteve valores superiores, numa ordem média de 1%P. Este facto pode ser justificado pela obtenção de valores de humidade ligeiramente inferiores no laboratório da Carlsberg, resultando de condições de transporte impróprias.

O valor de reprodutibilidade fornecido pelo EBC para a quantificação do extrato solúvel foi de $0,2 + 0,06 \times \bar{x}$ e para o TAE foi de $2,2 + 0,045 \times \bar{x}$.

Para um nível de confiança de 95%, o limite de reprodutibilidade (R) é calculado através da equação 7.

Verificou-se então que tanto os valores de extrato solúvel como os de extrato extraível quantificados pelo método EBC se encontram dentro da reprodutibilidade estabelecida, ficando assim os dois métodos validados interlaboratorialmente. Os valores de reprodutibilidade para o ensaio realizado, assim como os valores estabelecidos pelo EBC encontram-se disponíveis no anexo 4.

4.7 Determinação de FAN nos Extratos

Uma das questões levantadas ao longo do decorrer deste projeto prendeu-se com a existência de componentes passíveis de ser utilizados na etapa de fermentação nos extratos retirados da dreche. De modo a confirmar esta dúvida decidiu-se realizar a determinação de FAN apenas

para o extrato solúvel, visto que é um método direto de obtenção de extrato em quantidades facilmente medíveis.

O método de análise dá uma estimativa dos ácidos aminados, amoníaco e grupos de azoto α -aminado terminais dos peptídeos e proteínas. O FAN é uma importante medida geral destes nutrientes, que constituem o azoto que a levedura assimila durante a fermentação do mosto.

A tabela seguinte fornece a quantidade FAN presentes no extrato solúvel de 3 fabricos diferentes.

Tabela 9 - Determinação de FAN no extrato solúvel

Data	Fabrico	Filtro	Tipo	Extrato solúvel (%P)	FAN (mg/L)
07/05/18	765	1	Super Bock	1,2	22,0
07/05/18	765	2		1,6	28,0
08/05/18	773	1		1,0	7,0
08/05/18	773	2		1,2	20,0
09/05/18	784	1		0,9	12,0
09/05/18	784	2		1,4	19,0

Constata-se então que a presença de aminados na água de prensagem da dreche ainda é considerável e que segue a mesma tendência diferenciadora entre os dois filtros, ou seja, a concentração de FAN é sempre superior no filtro 2 face ao 1.

4.8 Mini-Fábrica

No segmento de cervejas artesanais, o Super Bock Group aposta fortemente na sua marca Seleção 1927 (figura 34), onde se distinguem 3 cervejas: Bavaria Weiss, Munich Dunkel e Bengal Amber IPA.

A gama Super Bock Seleção 1927 é composta por cervejas artesanais inspiradas em diferentes origens, lançadas de forma sazonal em edições limitadas ^[21].



Figura 34 - Cervejas Seleção 1927

O seu fabrico faz-se a uma escala consideravelmente menor, sendo mais do que expectável a obtenção de rendimentos francamente inferiores ao dos de uma cerveja produzida industrialmente.

A título meramente informativo, foi efetuada a quantificação dos extratos solúvel e extraível das três cervejas mencionadas, estando estes presentes na seguinte tabela:

Tabela 10 - Extratos Solúvel e Extraível de cervejas Seleção 1927

Tipo de cerveja	Extrato Solúvel (%P)	Extrato Extraível (%P)
Bavaria Weiss	7,7	15,1
Munich Dunkel	2,8	7,2
Bengal Amber IPA	6,4	15,1

Verifica-se então que ambos os extratos são bastante superiores para cervejas artesanais. Esta discrepância de valores é sobretudo notável para as cervejas Weiss e IPA.

Os valores obtidos já eram esperados, tendo em atenção a moagem mais grossa para o malte usado nestas cervejas, assim como a utilização de instalações de menores dimensões e mais propensas a perdas de eficiência. É necessário relevar que as instalações de produção de cervejas artesanais estão menos orientadas para indicadores de eficiência e rentabilidade e mais focadas nas características diferenciadoras de cada cerveja.

5 Conclusões

Concluindo a implementação da metodologia de quantificação dos açúcares existentes na dreche e do acompanhamento ao funcionamento dos fabricos de mosto realizados na Sala Nordon, ficou clara a possibilidade de melhoria do processo e de aumento de rentabilidade na extração de material fermentável da matéria-prima utilizada. Os dois métodos combinados serão preponderantes na deteção de problemas de qualidade nas matérias-primas, assim como na avaliação da eficiência do processo de fabricação de mosto.

Conclui-se que a percentagem de malte utilizada na fabricação de mosto será crucial nos valores de extrato solúvel e extraível. Nas atuais condições de operação, verificou-se que quanto maior for esta percentagem de malte, menores serão os valores de extrato na dreche, o que significará a obtenção de valores de extrato fermentável superiores. Ficou comprovado que o processo de extração de açúcares é mais eficaz para a cerveja Carlsberg, seguindo-se a Super Bock e em último a Cristal. Isto poderá ser explicado tendo em conta que a ação enzimática se efetua mais eficientemente em cereais maltados. Com uma brassagem inadequada, aumentando a quantidade de *grits* de milho e de cevada, ficará mais difícil a obtenção de açúcares fermentáveis. Uma solução para este problema de extratos elevados poderá passar por aumentar a quantidade de enzimas adicionadas durante a etapa de brassagem ou experimentar diferentes enzimas que possam potenciar uma maior obtenção de açúcares.

É também possível concluir que a qualidade das matérias-primas rececionadas será um fator determinante na tentativa de obtenção de menores valores de extrato solúvel e extraível. Foram detetadas palhas em excesso no malte rececionado, resultado num fraco aproveitamento no que toca à extração de açúcares, assim como uma rápida colmatação do filtro-prensa. Este excesso de palhas resultou numa reclamação ao fornecedor.

A moagem das matérias-primas envolvidas na etapa de produção de mosto será também essencial para um bom aproveitamento dos extratos. Sabe-se que sobretudo a cevada, cereal não maltado, é mais difícil de moer devido à sua elevada dureza. Verificou-se que a presença de grãos por moer na dreche resultou num extrato solúvel mais elevado, mas sobretudo num extrato extraível acima do normal.

Existe uma discrepância entre os dois filtros presentes na sala de Fabrico, ao nível de resultados de ambos os extratos medidos. O filtro 2, instalado mais recentemente, não apresenta a mesma eficiência do filtro 1, nem apresenta resultados tão constantes como este último. A oportunidade de melhoria no filtro 2 é notória e é aconselhável uma possível consulta com o fabricante do filtro, a empresa belga Meura.

Uma tentativa de melhoria no processo também poderá trazer consequências negativas. Ao tentar retirar uma maior quantidade de extrato, será também consumida uma maior quantidade de água e de energia na etapa de filtração.

Relativamente à análise dos extratos presentes na dreche, ficou clara que a mesma se deve proceder com a maior brevidade possível. Isto significa que para a obtenção e quantificação do extrato solúvel, a dreche deve ser prensada após recolha dos filtros, sendo depois levada à estufa de modo a desidratar a amostra. Quando se obtiver número pretendido de amostras (o banho de maceração pode acomodar até um máximo de 8 amostra por cada brassagem) deverá ser efetuada a determinação do extrato extraível. Assim sendo, é desaconselhável a congelação de amostras de dreche, com o risco de obtenção de resultados pouco reprodutíveis.

Os métodos implementados ficaram validados através de uma análise independente interlaboratorial, no Laboratório Central da Carlsberg sediado em França. Esta validação resultou da obtenção de limites de reprodutibilidade inferiores aos estipulados pelo EBC.

Na literatura consultada é recomendada uma análise de periodicidade trimestral à dreche, no entanto aconselha-se um acompanhamento mais regular na primeira fase após a implementação da metodologia descrita neste projeto. Este acompanhamento deverá ser efetuado aos dois filtros da Sala Nordon, assim como aos vários tipos de cerveja produzida. Só desta forma será possível um verdadeiro ajuste do processo, de modo a rentabilizá-lo, diminuindo as perdas de extrato.

6 Avaliação do Trabalho Realizado

6.1 Objetivos Realizados

Foi concretizado o objetivo central a todo o projeto e estágio no Super Bock Group, isto é, a implementação de metodologias de obtenção e quantificação da percentagem de Plato do extrato solúvel e extraível na dreche. Esta implementação culminou na execução de um acompanhamento sistemático ao funcionamento da sala de produção de mosto realizado na empresa, assim como na elaboração de MCQ's para posterior uso no Laboratório Central. O método implementado poderá então ser facilmente executado por qualquer operador.

6.2 Outros Trabalhos Realizados

Para além do projeto central ao estágio realizado no Super Bock Group foram ainda desenvolvidos acompanhamentos às principais matérias-primas utilizadas no processo de produção de cerveja. É de salientar a obtenção de conhecimento em relação à determinação dos parâmetros de qualidade de malte, matéria-prima central da produção cervejeira.

Foram também adquiridas aptidões na análise físico-química das várias etapas de produção de cerveja.

6.3 Limitações e Trabalho Futuro

O trabalho realizado apenas ficará devidamente concluído com um acompanhamento regular dos níveis de extrato presentes na dreche, sendo necessário um ajuste e otimização do processo de modo a reduzir a quebra de eficiência. O acompanhamento das matérias-primas rececionadas será também fulcral de modo a reduzir perdas de extrato. Poderão ainda ser efetuados ensaios de modo a promover o aumento de eficiência na etapa de brassagem, não só envolvendo as enzimas Termamyl 120 L e a SAN Super 360 L, mas também variando factores como a temperatura e o próprio tempo da etapa. Estas possíveis melhorias na obtenção de açúcares fermentáveis será uma mais valia considerável na conjugação da técnica de HGB. Em paralelo a estes ensaios poderá ainda ser feita uma análise de custos, sobretudo relativa à compra das enzimas mencionadas.

É ainda aconselhável a análise de reprodutibilidade com diferentes operadores, de modo a verificar a viabilidade do método.

6.4 Apreciação Final

O projeto concluído foi preponderante na interação com o ambiente industrial, sendo também fundamental de modo a compreender o modo como a Engenharia Química se insere em diferentes áreas industriais.

A presente dissertação serve de ponto de partida a um acompanhamento periódico aos fabricos de mosto, resultando os mesmo numa melhoria de eficiência do processo.

Referências

- [1] <http://www.superbockgroup.com/detalhe/sobre-o-grupo/> - Acedido em 14 de Fevereiro de 2018
- [2] Kunze, W., Weber, R. *Technology Brewing and Malting*. VLB, Berlin, 32-281, 2004.
- [3] Eßlinger, H. M. *Handbook of Brewing - Processes, Technology, Markets*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Germany, 85-459, 2009.
- [4] Hornsey, I. *A history of beer and brewing, vol 1*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2004.
- [5] <http://www.meura.com/products-and-services/brewhouse/mash-filtration/meura-2001-carbo.htm> -Acedido em 12 de Maio de 2018
- [6] Robertson, J. *Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production*. LWT - Food Science and Technology, 2010.
- [7] Buffington, J. *The Economic Potential of Brewer's Spent Grain (BSG) as a Biomass Feedstock*. Advances in Chemical Engineering and Science, 2014.
- [8] Salihu, A., Bala, M. *Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications*. African Journal of Biotechnology, 2011.
- [9] Mathias, T. R. S., et al. *Characterization and determination of brewer's solid wastes composition*. Journal of the Institute of Brewing, 2015.
- [10] Cutaia, A. J., et al. *Examination of the relationships between original, real and apparent extracts, and alcohol in pilot plant and commercially produced beers*. Journal of the Institute of Brewing, 2009.
- [11] <https://www.analytica-ebc.com/index.php?mod=contents&scat=18> -Acedido a 2 de Abril de 2018
- [12] <https://europeanbreweryconvention.eu/> - Acedido em 20 de Fevereiro de 2018
- [13] Mussatto, S.I., et al. *Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications*. Journal of Cereal Science, 2006.
- [14] Stewart, G. *High-Gravity Brewing and Distilling - Past Experiences and Future*

- Prospects*. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2010.
- [15] Stewart, G.G., *et al.* *Recent developments in high gravity brewing*. Master Brewers Association of the Americas, 1999.
- [16] <http://www.ncbe.reading.ac.uk/MATERIALS/Enzymes/termamyl.html> acessado em 13 de Março de 2018
- [17] Poreda, A., *et al.* *Corn grist adjunct— application and influence on the brewing process and beer quality*. Journal of the Institute of Brewing, 2014.
- [18] Fogh, H. *Wort Production*. The Scandinavian School of Brewing, 2010.
- [19] Guimarães, Eduardo. *Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*. INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial, 2011.
- [20] Belouafa, S., *et al.* *Statistical tools and approaches to validate analytical methods: methodology and practical examples*. International Journal of Metrology and Quality Engineering, 2017.
- [21] <http://www.superbock.pt/pt/pt/seleccao-1927/> - Acessado em 1 de Junho de 2018

Anexo 1

Tabela A1.1 - Tabela de Goldiner e Klemann

Extrato (%P)	Densidade (g/cm³)	Extrato g /L	Álcool %V/V
1,0	1,0039	10,0	0,4
1,5	1,0058	15,1	0,6
2,0	1,0078	20,1	0,8
2,5	1,0098	25,2	1,0
3,0	1,0117	30,3	1,3
3,5	1,0137	35,4	1,5
4,0	1,0157	40,6	1,7
4,5	1,0177	45,7	1,9
5,0	1,0197	50,9	2,1
5,5	1,0216	56,1	2,3
6,0	1,0237	61,3	2,5
6,5	1,0277	66,6	2,8
7,0	1,0300	71,8	3,0
7,5	1,0318	77,1	3,2
8,0	1,0338	82,4	3,4
8,5	1,0358	87,7	3,6
9,0	1,0379	93,1	3,9
9,5	1,0400	98,4	4,1
10,0	1,0400	103,8	4,3
10,5	1,0421	109,2	4,5
11,0	1,0441	114,7	4,8
11,5	1,0463	120,1	5,0
12,0	1,0483	125,6	5,2
12,5	1,0505	131,1	5,4
13,0	1,0525	136,6	5,7
13,5	1,0547	142,1	5,9
14,0	1,0568	147,7	6,1
14,5	1,0590	153,3	6,4
15,0	1,0611	158,9	6,6
15,5	1,0633	164,5	6,8
16,0	1,0654	170,2	7,1
16,5	1,0676	175,8	7,3
17,0	1,0697	181,5	7,5
17,5	1,0720	187,2	7,8
18,0	1,0741	193,0	8,0
18,5	1,0764	198,8	8,2
19,0	1,0785	204,6	8,5
19,5	1,0810	210,4	8,7
20,0	1,0830	216,2	6,6

Anexo 2

Product Data Sheet
Valid from 2017-08-24

1 of 2

Termamyl® 120 L, Type L

In this product the key enzyme activity is provided by endo-amylase that hydrolyzes (1,4)-alpha-D-glucosidic linkages in starch polysaccharides

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES

Component name	Alpha-amylase
Activity	120 KNU-T/g
Color	Yellow to light brown
Physical form	Liquid
Approximate density (g/ml)	1.25
Viscosity (cps)	1-25
Color can vary from batch to batch. Color intensity is not an indication of enzyme activity.	

PRODUCT SPECIFICATION

	Lower Limit	Upper Limit	Unit
Alpha-amylase unit KNU-T	120		/g
pH at 25°C	5.5	7.0	
Total viable count	-	50000	/g
Coliform bacteria	-	30	/g
E.coli	Not Detected		/25 g
Salmonella	Not Detected		/25 g
Heavy metals		Max 30	mg/kg
Lead		Max 5	mg/kg
Arsenic		Max 3	mg/kg
Cadmium		Max 0.5	mg/kg
Mercury		Max 0.5	mg/kg

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION

Preservatives	Potassium sorbate
Stabilizers	Sodium chloride Sucrose

ALLERGEN

Allergen	Substance contained ¹	Allergen	Substance contained ¹
Celery	no	Molluscs	no
Cereals containing gluten ^{2,4}	no	Mustard	no
Crustaceans	no	Nuts ³	no
Egg	no	Peanuts	no
Fish	no	Sesame	no
Lupin	no	Soy	no
Milk (including lactose)	no	Sulphur dioxide/sulphites, more than 10 mg per kg or l	no

¹Definition of substances according to EU Regulation 1169/2011, as amended. List covers allergens mentioned in 21 USC 301 (US) and GB 7718-2011 (China).

²i.e.wheat, rye, barley, oats, spelt, kamut

³i.e. almond, hazelnut, walnut, cashew, pecan nut, Brazil nut, pistachio nut, macadamia nut and Queensland nut

⁴ If No: Glutenfree i.e. < 20ppm (EU Regulation 41/2009)

GM STATUS

This product is not a GMO.

The enzyme product is manufactured by fermentation of a microorganism that is not present in the final product. The production organism is characterized as self-cloned according to the EU definition.

STORAGE CONDITION

Packaging must be kept intact, dry, and away from sunlight. Please follow the recommendations and use the product before the best before date to avoid the need for a higher dosage.

Best before: You will find the best before date in the certificate of analysis or on the product label.

The product gives optimal performance if stored at 0–10 °C/32–50 °F and used prior to the best-before date. If stored at max. 25 °C/77 °F, the product should be used within 3 months after delivery.

The product can be transported at ambient temperature. Following delivery, the product should be stored as recommended.

Rethink Tomorrow

novozymes 

Product Data Sheet

2 of 2

Valid from 2017-08-24

SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes, and mucous membranes upon prolonged contact. See the MSDS or Safety Manual for further information regarding safe handling of the product and spills.

COMPLIANCE

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC).

Kosher and Halal certificates are available from the Customer Center or sales representative.

CERTIFICATIONS

Novozymes is a signatory to United Nations Global Compact, United Nations Convention on Biological Diversity and report on our sustainability performance through Global Reporting Initiative (GRI). See all our commitments under sustainability on www.novozymes.com.

**FOOD SAFETY**

Novozymes has carried out a hazard analysis and prepared an HACCP plan describing the critical control points (CCPs). The HACCP plan is supported by a comprehensive prerequisite program implemented in Novozymes' GMP practices.

The product is produced according to Novozymes' HACCP plan, GMP practices, and additional requirements controlled by Novozymes' Quality Management System.

PACKAGING

The product is available in different types of packaging. Please contact the sales representative for more information.

For more information, or for more office addresses, visit www.novozymes.com

Novozymes A/S
Krogshoejvej 36
2880 Bagsvaerd
Denmark

Laws, regulations and/or third party rights may prevent customers from importing, using, processing and/or reselling the products described herein in a given manner. Without separate, written agreement between the customer and Novozymes to

novozymes.com

Figura A2.1 - Ficha técnica da enzima Termamyl 120L

Product Data Sheet

Valid from 2017-08-24

1 of 2

SAN Super

360 L

In this product the key enzyme activity is provided by
 endo-amylase that hydrolyzes (1,4)-alpha-D-glucosidic linkages in starch polysaccharides
 glucoamylase that hydrolyzes (1,4)- and (1,6)-alpha-D-glucosidic linkages at the non-reducing ends of
 polysaccharides
 metallo endoprotease that hydrolyzes internal peptide bonds

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES

Component name	Glucoamylase (glucan 1,4-alpha-glucosidase)
	Alpha-amylase
	Protease (neutral)
Activity	360 AGU/ml
	80 FAU-F/ml
	0.12 AU-N/ml
Color	Light to dark brown
Physical form	Liquid
Approximate density (g/ml)	1.24
Color can vary from batch to batch. Color intensity is not an indication of enzyme activity.	

PRODUCT SPECIFICATION

	Lower Limit	Upper Limit	Unit
Amyloglucosidase unit AGU	360		/ml
Proteolytic unit AU-N	0.12		/ml
Fung.alpha amylase Unit FAU-F ₈₀			/ml
pH at 25°C	4.5	6.0	
Total viable count	-	50000	/g
Coliform bacteria	-	30	/g
E.coli	Not Detected		/25 g
Salmonella	Not Detected		/25 g
Heavy metals		Max 30	mg/kg
Lead		Max 5	mg/kg
Arsenic		Max 3	mg/kg
Cadmium		Max 0.5	mg/kg
Mercury		Max 0.5	mg/kg

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION

Preservatives	Potassium sorbate
	Sodium benzoate
Stabilizers	Sodium chloride
	Sorbitol
	Sucrose

ALLERGEN

Allergen	Substance contained ¹	Allergen	Substance contained ¹
Celery	no	Molluscs	no
Cereals containing gluten ^{2,4}	no	Mustard	no
Crustaceans	no	Nuts ³	no
Egg	no	Peanuts	no
Fish	no	Sesame	no
Lupin	no	Soy	no
Milk (including lactose)	no	Sulphur dioxide/sulphites, more than 10 mg per kg or l	no

¹Definition of substances according to EU Regulation 1169/2011, as amended. List covers allergens mentioned in 21 USC 301 (US) and GB 7718-2011 (China).

²i.e. wheat, rye, barley, oats, spelt, kamut

³i.e. almond, hazelnut, walnut, cashew, pecan nut, Brazil nut, pistachio nut, macadamia nut and Queensland nut

⁴ If No: Glutenfree i.e. < 20ppm (EU Regulation 828/2014)

GM STATUS

This product is not a GMO.

The enzyme product is manufactured by fermentation of microorganisms that are not present in the final product. Some of the production organisms are characterized as self-cloned according to the EU definition.

Rethink Tomorrow


novozymes

Product Data Sheet

2 of 2

Valid from 2017-08-24

STORAGE CONDITION**Recommended storage:** 0-10 °C (32-50 °F)

Packaging must be kept intact, dry, and away from sunlight. Please follow the recommendations and use the product before the best before date to avoid the need for a higher dosage.

Best before: You will find the best before date in the certificate of analysis or on the product label.

The product gives optimal performance if stored at 0–10 °C/32–50 °F and used prior to the best-before date. If stored at max. 25 °C/77 °F, the product should be used within 3 months after delivery.

The product can be transported at ambient temperature. Following delivery, the product should be stored as recommended.

SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes, and mucous membranes upon prolonged contact. See the MSDS or Safety Manual for further information regarding safe handling of the product and spills.

COMPLIANCE

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC).

Kosher certificate is available from the Customer Center or sales representative.

CERTIFICATIONS

Novozymes is a signatory to United Nations Global Compact, United Nations Convention on Biological Diversity and report on our sustainability performance through Global Reporting Initiative (GRI). See all our commitments under sustainability on www.novozymes.com.

**FOOD SAFETY**

Novozymes has carried out a hazard analysis and prepared an HACCP plan describing the critical control points (CCPs). The HACCP plan is supported by a comprehensive prerequisite program implemented in Novozymes' GMP practices.

The product is produced according to Novozymes' HACCP plan, GMP practices, and additional requirements controlled by Novozymes' Quality Management System.

The product complies with FAO/WHO JECFA- and FCC-recommended purity requirements regarding mycotoxins.

**PACKAGING**

The product is available in different types of packaging. Please contact the sales representative for more information.

For more information, or for more office addresses, visit www.novozymes.com

Laws, regulations and/or third party rights may prevent customers from importing, using, processing and/or reselling the products described herein in a given manner. Without separate, written agreement between the customer and Novozymes to

Novozymes A/S
Krogshøjvej 36
2880 Bagsvaerd
Denmark

novozymes.com

Figura A2.2 - Ficha técnica da enzima SAN Super 360L

Anexo 3

Tabela A3.1 - Descrição das amostras das figuras 16 e 19

Número da amostra	Data	Fabrico	Filtro	Tipo de cerveja
1	23/03/18	421	1	Super Bock
2	03/04/18	474		
3	04/04/18	486		
4	05/04/18	495		
5	06/04/18	508		
6	09/04/18	524		
7	13/04/18	566		
8	23/04/18	538		
9	26/04/18	660		
10	27/04/18	671		
11	30/04/18	701		
12	07/05/18	765		
13	08/05/18	773		
14	09/05/18	784		
15	14/05/18	822		
16	14/05/18	824		
17	16/05/18	843		
18	02/06/18	1026		
19	06/06/18	1030		
20	07/06/18	1040		
21	11/06/18	1084		

Tabela A3.2 - Descrição das amostras das figuras 17 e 20

Número da amostra	Data	Fabrico	Filtro	Tipo de cerveja
1	16/04/18	584	1	Cristal
2	24/04/18	645		

Tabela A3.3 - Descrição das amostras das figuras 18 e 21

Número da amostra	Data	Fabrico	Filtro	Tipo de cerveja
1	02/05/18	719	1	Carlsberg
2	07/05/18	762		
3	15/05/18	833		

Tabela A3.4 - Descrição das amostras das figuras 24 e 25

Número da amostra	Data	Fabrico	Tipo de cerveja
1	27/04/18	671	Super Bock
2	30/04/18	701	
3	07/05/18	765	
4	08/05/18	773	
5	09/05/18	784	
6	14/05/18	824	
7	16/05/18	843	
8	02/06/18	1026	
9	06/06/18	1030	
10	07/06/18	1040	
11	11/06/18	1084	

Tabela A3.5 - Descrição das amostras da figura 28

Número da amostra	Data	Fabrico	Filtro	Tipo de cerveja
1	23/04/18	538	1	Super Bock
2	26/04/18	660	1	
3	27/04/18	671	1	
4	27/04/18	671	2	
5	30/04/18	701	1	
6	30/04/18	701	2	
7	09/05/18	784	1	
8	09/05/18	784	2	
9	14/05/18	824	1	

Tabela A3.6 - Descrição das amostras da figura 29

Número da amostra	Data	Fabrico	Tipo de cerveja
1	09/05/18	784	Super Bock
2	14/05/18	824	
3	02/06/18	1026	
4	06/06/18	1030	
5	11/06/18	1084	

Tabela A3.8 - Descrição das amostras das figuras 30 e 31

Número da amostra	Data	Fabrico	Filtro	Tipo de cerveja
1	03/04/18	474	1	Super Bock
2	05/04/18	495		
3	23/04/18	538		
4	27/04/18	671		
5	14/05/18	822		

Anexo 4

Number of Observations n	Values of Grubbs Statistic (G)					
	Confidence Level (%)					
	99.9	99.5	99	97.5	95	90
3	1.155	1.155	1.155	1.155	1.153	1.148
4	1.499	1.496	1.492	1.481	1.463	1.425
5	1.780	1.764	1.749	1.715	1.672	1.602
6	2.011	1.973	1.944	1.887	1.822	1.729
7	2.201	2.139	2.097	2.020	1.938	1.828
8	2.358	2.274	2.221	2.126	2.032	1.909
9	2.492	2.387	2.323	2.215	2.110	1.977
10	2.606	2.482	2.410	2.290	2.176	2.036
11	2.705	2.564	2.485	2.355	2.234	2.088
12	2.791	2.636	2.550	2.412	2.285	2.134
13	2.867	2.699	2.607	2.462	2.331	2.175
14	2.935	2.755	2.659	2.507	2.371	2.213
15	2.997	2.806	2.705	2.549	2.409	2.247
16	3.052	2.852	2.747	2.585	2.443	2.279
17	3.103	2.894	2.785	2.620	2.475	2.309
18	3.149	2.932	2.821	2.651	2.504	2.335
19	3.191	2.968	2.854	2.681	2.532	2.361
20	3.230	3.001	2.884	2.709	2.557	2.385
30	3.507	3.236	3.103	2.908	2.745	2.563
40	3.673	3.381	3.240	3.036	2.866	2.682
50	3.789	3.483	3.336	3.128	2.956	2.768
60	3.874	3.560	3.411	3.199	3.025	2.837
70	3.942	3.622	3.471	3.257	3.082	2.893
80	3.998	3.673	3.521	3.305	3.130	2.940
90	4.044	3.716	3.563	3.347	3.171	2.981
100	4.084	3.754	3.600	3.383	3.207	3.017

Source: ASTM E178-00, "Standard Practice for Dealing with Outlying Observations"

Figura A4.1 - Valores de Grubbs

Tabela A4.1 - Valores de reprodutibilidade da comparação interlaboratorial

Extrato Solúvel (%P)		TAE (%P)	
Reprodutibilidade do Ensaio	Reprodutibilidade EBC	Reprodutibilidade do Ensaio	Reprodutibilidade EBC
0,3	0,3	2,0	2,6
0,7	1,0	2,4	3,0
0,6	0,4	2,4	2,6
0,0	0,4	1,8	2,6
0,4	0,3	2,2	2,6
0,2	0,5	2,2	2,7
0,2	0,3	1,0	2,6
0,4	0,4	2,3	2,7