



Relatório de Estágio

Estudo de Diversas Metodologias de Avaliação do Estado Microbiológico das Adegas

Trabalho realizado por: Lígia Vânia da Silva Rodrigues Fonseca

Centro de Produção de Leça do Balio

Abril 2003

66(047.3)
LEQ 2002/FONL

SUMÁRIO



Relatório de Estágio

**Estudo de Diversas Metodologias de
Avaliação do Estado Microbiológico das
Adegas**

Trabalho realizado por: Lígia Vânia da Silva Rodrigues Fonseca

Centro de Produção de Leça do Balio
Abril 2003



UNIÃO EUROPEIA
Fundo Social Europeu



66 (047.3) / LEQ 2002 / F0NL

Universidade do Porto	
Faculdade de Engenharia	
Biblioteca	
Nº	88388
CDU	
Data	/ / 20

SUMÁRIO

Este relatório foi desenvolvido, como resultado do estágio, no âmbito do PRODEP III (Programa de estágios para o ensino superior).

O estágio foi dividido em duas etapas. A primeira etapa consistiu na familiarização com o processo de fabricação de cerveja, conhecimento do autocontrolo e controlo laboratorial exigido ao produto e conhecimento das metodologias e processos utilizados.

A segunda etapa foi dividida em diferentes trabalhos:

- Acompanhamento da revisão e manutenção da instalação de propagação e stockagem;
- Estudo da aplicabilidade do método de bioluminescência para avaliar o estado de higienização das instalações;
- Acompanhamento das características da levedura na instalação de propagação.

No que diz respeito ao primeiro e terceiro trabalho, não me é possível fazer qualquer comentário, dado que foi assinado um contrato de confidencialidade com a empresa.

Em relação ao segundo trabalho, pode-se concluir que seria útil a aquisição de um luminómetro para atestar o estado de higienização das adegas. No entanto, o método tradicional mantém o seu interesse para análise do histórico pela sua capacidade de identificar/quantificar o tipo de microrganismos.

4.4- Discussão dos Resultados.....	21
4.5- Conclusão.....	24
Bibliografia.....	25
Anexo I.....	26

INTRODUÇÃO

O trabalho desenvolvido na UNICER – Centro de Produção de Leça do Balio abrangeu diversas áreas do serviço de produção de cerveja e controlo de qualidade, utilizando várias metodologias e processos já praticados, bem como o estudo de uma nova metodologia (bioluminescência).

Este estágio, ao contrário de se focalizar numa área restrita, usufruiu da possibilidade de ampliar os contactos, ajudando a sedimentar muitos dos conhecimentos adquiridos na nossa licenciatura.

1 – HISTÓRIA DA EMPRESA

A 7 de Março de 1890 foi constituída, no Porto, a Companhia União Fabril Portuense das Fábricas de Cerveja e Bebidas Refrigerantes, uma Sociedade Anónima de Responsabilidade Limitada que ficou conhecida pela sigla CUF. Esta sociedade resultou da fusão de sete fábricas de cerveja, seis do Porto e uma de Ponte da Barca sendo o seu capital inicial de 125 contos de réis, os quais se encontravam repartidos por 1.250 acções de cem mil réis cada.



Após a fundação desta sociedade, foi percorrido um longo caminho desde a venda das instalações em ponte da Barca e dos armazéns de vinho em Vila Nova de Gaia até à actualidade. Um dos acontecimentos mais marcantes foi a admissão de mulheres, a título experimental, em 1920.

A década de 60 ficou marcada pela mudança das instalações, tendo começado a construção da nova unidade fabril na Via Norte.



A 6 de Junho de 1964, foi inaugurada oficialmente pelo Ministro da Economia a nova fábrica de Leça do Balio. A 28 de Setembro, o Presidente da República presidiu a uma nova cerimónia de inauguração.

As vendas de cerveja neste ano cresceram cerca de 32 % em relação ao ano de 1963 tendo-se passado o mesmo com os refrigerantes com um crescimento de cerca de 27 %.

A 1 de Julho de 1977, o Conselho de Ministros, decidiu criar duas empresas públicas para o sector cervejeiro e em 30 de Dezembro dá-se a transformação da CUF em UNICER – União Cervejeira E.P. A UNICER resultou da fusão da CUF com a COPEJA (com fábrica em Santarém) e com a IMPERIAL (com fábrica em Loulé) e, ainda, com a RICAL (fábrica de refrigerantes em Sta. Iria da Azóia).



Partindo de uma situação líquida negativa e de uma quota do mercado nacional de cerveja de 33%, foi alcançada a liderança do sector com uma quota de 59% e uma posição económico-financeira de relevo no panorama empresarial português.



2-TIPOS DE CERVEJA

Os anos 80 foram marcados pela passagem da UNICER E.P. a UNICER S.A., ou seja, a empresa passou do sector público para o sector privado.

A protecção do ambiente, a preservação do património, a promoção da cultura e do desporto, são as nossas prioridades. Assim, para além da adopção de diversos procedimentos com o objectivo de proteger o ambiente de possíveis agressões resultantes da nossa actividade industrial, temos vindo a desenvolver uma política de mecenato em que as preocupações sociais convivem harmoniosamente com os grandes eventos nacionais. É esta a filosofia Unicer.



Na hora da mudança, a Assembleia Geral de 31 de Maio de 2000, ficou marcada pelo "passar de testemunho" do Sr. Eng. Soares da Fonseca ao Sr. Eng. Ferreira De Oliveira, na Presidência do Conselho de Administração. Menos de um ano depois, em 1 de Janeiro, a Unicer passa a designar-se por UNICER - Bebidas de Portugal, S.A. Uma mudança que pretende deixar para trás a ideia de uma empresa cervejeira com actividade complementar noutros segmentos do mercado das bebidas, para se afirmar, definitivamente, como empresa de bebidas. Com uma indiscutível liderança e competência no sector das cervejas, ambicionamos estar também entre as melhores empresas que, no nosso país, operam nos sectores das águas, refrigerantes, vinhos e cafés. É uma nova fase de crescimento que agora vivemos, sustentada por uma nova estrutura organizacional, contemplando um conjunto de Funções Corporativas que integram e promovem a estratégia de desenvolvimento do Grupo e das suas Unidades de Negócio. "Entre os nossos sonhos e os vossos sorrisos" é a nossa assinatura, que pretende traduzir a forma como queremos construir o nosso futuro.



fino, bem pronunciado.

As cervejas "Munchener" (de Munich) são típicas desta cidade de Baviera e, historicamente, eram cervejas de cor escura, pouco lupuladas, de baixo teor alcoólico e com um típico carácter a malte fabricado a elevadas temperaturas durante curto período de tempo.

As cervejas "Dortmunder" são típicas cervejas de cor clara-ouro, com características intermédias entre as "Pilsener" e as de "Munchener".

Finalmente, as cervejas do tipo Beck que começaram por ser produzidas na cidade de Einbeck, na Baixa Saxónia. Eram cervejas muito densas, de cor intensa, produzidas no Inverno para consumo na Primavera. Hoje, são cervejas

2-TIPOS DE CERVEJA

As cervejas existentes no mercado europeu, são bem diversas nas suas características organolépticas. Todavia, é possível agrupá-las em dois tipos:

- Cervejas de fermentação alta;
- Cervejas de fermentação baixa.

As cervejas de fermentação alta são muito comuns no Reino Unido. Estas podem ser divididas em:

- As cervejas "ale", mais ou menos fortes, de coloração variada e com amargor também muito diverso. O termo "ale" é usualmente utilizado como designação genérica das cervejas de fermentação alta;
- As cervejas de coloração muito intensa, com uma certa doçura a notar-se no paladar: são as cervejas "Stout". Todavia, existe um segmento das cervejas de fermentação alta, de coloração muito forte, de cor quase preta, pouco alcoólicas, que são bastante amargas. São conhecidas como cervejas "Porter";
- São também muito comuns na Bélgica certos tipos de cerveja de fermentação alta, espontânea, conhecidas por "Lambic", "Geuze", "Kriek", etc.;
- Outro tipo de cervejas, bem distinto dos anteriores é o das "cervejas de trigo", fermentadas exclusivamente por leveduras, como as "blanche" belgas, ou por leveduras e bacilos lácticos. Como a "Berliner Weiss".

As cervejas de fermentação baixa são geralmente conhecidas por cervejas Lager. Neste tipo de cervejas incluem-se as cervejas conhecidas como "Pilsener", "Munchener", "Dortmunder" e "Bock".

As cervejas "Pilsener" tendem a ser de cor muito clara, secas e menos alcoólicas que as "ale", e bastante lupuladas, logo com um carácter amargo muito fino, bem pronunciado.

As cervejas "Munchener" (de Munich) são típicas desta cidade da Baviera e, historicamente, eram cervejas de cor escura, pouco lupuladas, de baixo teor alcoólico e com um típico carácter a malte fabricado a elevadas temperaturas durante curto período de tempo.

As cervejas "Dortmunder" são típicas cervejas de cor clara-ouro, com características intermédias entre as "Pilsener" e as de "Munchener".

Finalmente, as cervejas do tipo Bock que começaram por ser produzidas na cidade de Einbeck, na Baixa Saxónia. Eram cervejas muito densas, de cor intensa, produzidas no Inverno para consumo na Primavera. Hoje, são cervejas

de cor intensa, mas é cada vez mais comum fabricá-la, também, com cor clara. Este tipo de cerveja, de acordo com a lei alemã, deve provir de um mosto com pelo menos 16% de extracto primitivo, o que resulta num teor alcoólico de 6 a 7,5% (vv.). São cervejas com muito corpo, com carácter a malte e bem lupuladas.

Modernamente fabricam-se cervejas Bock bem menos fortes e de coloração não muito carregada. No entanto, são cervejas de corpo apreciável, com um amargor bem equilibrado e com um suave carácter doce.

2.1- Características da Cerveja

2.1.1- Extracto primitivo

O mosto a fermentar tem uma concentração em açúcares específica, que é característica dos vários tipos de cerveja e que define o seu extracto primitivo.

2.1.2- Teor alcoólico

O teor alcoólico das cervejas está relacionado com o tipo de mosto que vai ser fermentado, com as temperaturas escolhidas para a fermentação e com as leveduras seleccionadas. O seu valor é moderado, quando comparado com o de outras bebidas fermentadas, como o vinho, por exemplo.

Hoje em dia existem cervejas com teores tão diminutos de álcool que podem ser consideradas "cervejas sem álcool". Segundo a legislação portuguesa as cervejas desta categoria devem ter menos de 0,5% de álcool em volume.

2.1.3- Amargor

A quantidade de lúpulo adicionado ao mosto origina um teor de amargor nas cervejas proporcional à adição efectuada.

2.1.4- Coloração

A cor da cerveja está essencialmente relacionada com a coloração dos maltes utilizados na sua fabricação.

2.1.5- Dióxido de Carbono

O dióxido de carbono que está presente nas cervejas, é um composto que provém directamente da acção fermentativa da levedura; os açúcares fermentescíveis são, de um modo genérico, desdobrados em álcool e em dióxido de carbono. Este fica retido no líquido e liberta-se tanto mais facilmente quanto maior for a temperatura do meio.

2.1.6- Espuma

Uma das características mais importantes da cerveja é a sua capacidade de formar espuma abundante, cremosa, estável e aderente ao copo. A espuma é um aglomerado de bolhas de dióxido de carbono envoltas em películas de proteínas.

A escolha da forma dos copos é muito importante para o realce da espuma, mas esta só se evidenciará em copos adequadamente lavados e secos, sem vestígios de gordura.

2.1.7- Aroma Gosto

Normalmente as cervejas são ricas em aromas e gostos diversos, provenientes de compostos voláteis cuja composição e concentração dependem das matérias-primas, do processo de fabricação utilizado e da estirpe de levedura escolhida.

Ao ser bebida, a cerveja deixa na boca um conjunto de sensações ligadas à frescura, ao corpo, ao equilíbrio amargo/doce, que perduram e que fazem dela uma bebida rica e de aroma gosto variado, característico de cada tipo de cerveja.

3- PRODUÇÃO DE CERVEJA

A cerveja é uma bebida ligeiramente alcoólica, que resulta da fermentação de um extracto aquoso de cereais germinados contendo lúpulo, a que se dá o nome de mosto. A fermentação do mosto é levada a cabo pela levedura (*Saccharomyces Cerevisiae*).

A levedura é um fungo unicelular, do género *Saccharomyces*, que se adiciona ao mosto lupulado depois de arrefecido como agente da fermentação alcoólica. Esta transformação dá também origem à formação dos produtos secundários responsáveis pelas características finais da cerveja (álcoois aromáticos, ésteres, etc.). A levedura utilizada desempenha pois um papel fundamental na definição final da cerveja.

De seguida encontra-se descrito o processo de fabrico da cerveja, encontrando-se na figura 1 o diagrama do processo.

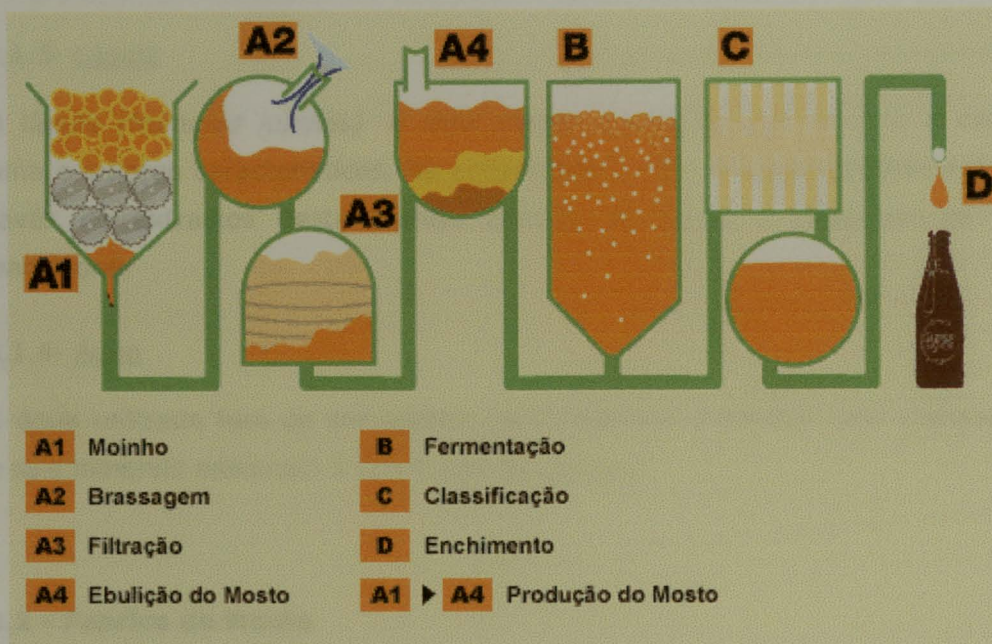


Figura 1 – Diagrama do processo e fabrico de cerveja.

3.1- Matérias-Primas

3.1.1- Malte

O malte é uma das matérias-primas fundamentais, obtendo-se da cevada, que é sujeita a um processo de germinação sob condições controladas. Esta operação (denominada maltagem) permite, numa fase posterior do processo de produção de cerveja, o desdobramento dos hidratos de carbono e das substâncias azotadas pelas enzimas formadas no processo de germinação.

3.1.2 - Outros cereais não maltados

De entre os cereais não maltados normalmente utilizados, recorre-se frequentemente ao milho, que depois de ser extraída a gordura, é moído passando a chamar-se griz. A utilização destes cereais tem como finalidade diminuir a percentagem de proteínas existentes no mosto. A cerveja fica então com um carácter mais seco.

3.1.3- Lúpulo

O lúpulo (*humulus lupulus*) é uma planta aromática que confere à cerveja aroma e amargo característicos. Na actualidade a sua utilização industrial é feita através de extractos desta planta, obtidos de forma a preservar as suas capacidades.

3.1.4- Água

A água utilizada tem de ser própria para consumo e possuir uma composição em sais minerais adequada à fabricação de cerveja.

3.2 - Fabrico de Mosto

A primeira fase no processo de produção de uma cerveja é a fabricação do mosto, que compreende diferentes etapas que irão ser descritas de seguida.

3.2.1- Ensilagem

A ensilagem tem a finalidade de armazenar matérias-primas, malte e griz, em silos ou células, provenientes de camiões.

3.2.2- Moagem

A etapa de moagem destina-se apenas ao malte, dado que o griz já se encontra reduzido a farinha.

A moagem do malte consiste em dividir a fracção farinosa do malte, separando as cascas – glumas e glumeras- responsáveis pela permeabilidade da camada da drêche.

Esta operação tem por objectivo melhorar a extracção do amido e permitir uma actividade mais eficiente das enzimas. No entanto o invólucro dos grãos de malte não deve ser partido mas sim esmagado, não só porque iria originar mau gosto na cerveja, mas também porque dificultaria a filtração.

3.2.3- Brassagem

A operação de brassagem tem por objectivo a extracção enzimática de todo o amido e a sua transformação em açúcares fermentescíveis (maltose, glucose e maltotriose) e não fermentescíveis, extraíndo, também, proteínas e transformando-as em péptidos e aminoácidos, β -glucanas degradadas em glucose, etc.

Durante a brassagem, extraem-se igualmente proteína transformadas em péptidos e aminoácidos, β – glucanas degradadas em glucose, etc.

A brassagem é pois uma operação bastante complexa e as condições operatórias (duração, temperaturas, estacionamento, pH, etc...) são escolhidas de maneira a obter um mosto de composição adequada ao tipo de cerveja a produzir. É durante a brassagem que serão fixadas, por exemplo, a relação álcool/densidade assim como o carácter mais ou menos "encorpado" da cerveja.

A brassagem dura 2 a 4 horas, termina a 75° – 76°C e a concentração do mosto é da ordem dos 20 a 22 g de extracto por 100g de mosto.

3.2.4- Filtração do Mosto

Após a brassagem, a solução aquosa é sujeito a uma filtração para separar a parte insolúvel (drêche, que é um excelente alimento para o gado) do filtrado (mosto).

A filtração do mosto é efectuada num filtro prensa ou numa cuba filtro, tendo uma duração de cerca de 2-3 horas, e é conduzida a uma temperatura de 75-80 °C.

3.2.5- Ebulição do Mosto

Esta etapa tem como objectivos:

- Esterilização do mosto;
- Destruição das enzimas, se estas se encontrassem no mosto no início da fermentação provocaria a formação de uma cerveja anormal;
- Dissolução dos Constituintes do lúpulo;
- Precipitação de proteínas e outras substâncias com elevado peso molecular;
- Concentração do mosto.

A realização destes objectivos permitem, simultaneamente, estabilizar a composição do mosto e aromatizá-lo.

O lúpulo natural, em flor ou transformado em extracto, é adicionado durante a ebulição; sendo as resinas amargas solubilizadas por isomerização. O rendimento máximo desta isomerização é atingido em 90 minutos (ebulição à pressão atmosférica).

3.2.6- Clarificação do Mosto

Após a ebulição e devido à formação de diferentes sedimentos é necessário proceder à sua clarificação.

O objectivo da clarificação do mosto é a obtenção de um líquido o mais límpido possível, ou seja, isento de matérias em suspensão, que iriam interferir no processo de fermentação.

O processo utilizado neste centro de produção é a decantação. Este processo consiste em deixar as partículas em suspensão no mosto sedimentarem no fundo de um recipiente pela acção do seu próprio peso.

3.3 – Arrefecimento e Oxigenação do Mosto

O objectivo do arrefecedor do mosto é baixar a temperatura do mosto, para que a levedura quando for transferida para este não perca a viabilidade. Esta operação deve ser conduzida em condições estéreis, utilizando para tal permutadores de placas. Neste permutador quer o mosto, quer o líquido

arrefecedor não entram em contacto com o meio ambiente. Desta forma o risco de infecção é mínimo, dependendo apenas da higienização do permutador.

Após o arrefecimento do mosto, procede-se à oxigenação do mesmo. Esta destina-se a criar condições adequadas para que as células de levedura se desenvolvam e conseqüentemente se dê a fermentação. A quantidade de oxigénio necessária para um bom desenvolvimento da levedura é, no mínimo, de 6 mg/l.

Durante a ebulição do mosto todo o oxigénio foi expelido do mosto e não houve dissolução deste gás, enquanto o mosto se manteve quente, porque o oxigénio é pouco solúvel no mosto quente e também porque ser-lhe-ia prejudicial, provocando reacções químicas de oxidação com determinados constituintes do mosto, que prejudicavam a cerveja resultante. Desta forma o oxigénio só pode ser dissolvido no mosto após o arrefecimento.

3.4 – Fermentação/ Maturação/ Estabilização

Após a entrada de todo o mosto e levedura para a cuba é iniciado um ciclo de *fermentação*. Nesta fase a levedura consome a maior parte dos aminoácidos do mosto e excreta álcoois superiores e ésteres indispensáveis ao carácter aromático da cerveja.

Os açúcares fermentescíveis (glucose, frutose, sacrose, maltose e maltotriose) são consumidos, formando-se etanol e CO₂.

A fermentação é conduzida a temperaturas controladas e tem uma duração de cerca de 7 dias. Ao princípio ela é tumultuosa, tornando-se depois progressivamente mais lenta, até que a levedura se deposita no fundo do tanque.

De seguida a cerveja deve ser mantida por um período de 12 a 30 dias em *maturação*. Nesta fase ocorre a eliminação de substâncias indesejáveis na cerveja, como o diacetilo, aldeídos e sulfuretos de hidrogénio.

Após um período de maturação, a cerveja sofre um processo de *estabilização* no qual é favorecida a formação de complexos proteína-polifenóis. Estes componentes são responsáveis, principalmente, pelo aparecimento de turvações na cerveja em garrafa durante a sua armazenagem.

3.5 – Clarificação da Cerveja

Posteriormente é iniciado o processo de clarificação. O objectivo da clarificação da cerveja é retirar todas as partículas que se encontram em suspensão que provocam a turvação da mesma. Desta forma a cerveja fica límpida, transparente e brilhante. Ao proceder à retirada destas partículas confere-se à cerveja a sua estabilidade coloidal.

A clarificação é levada a cabo numa das duas linhas existentes, a linha *Orion* e a linha *Schenk*. As duas linhas utilizam os mesmos processos de clarificação sendo o filtro *Kieselguhr* da primeira horizontal e o da segunda é vertical.

O processo inicia-se com a passagem da cerveja por uma centrífuga. Esta funciona como uma pré-clarificação, dado que permite retirar uma grande parte da levedura existente na cerveja para que não se dê a colmatção precoce do filtro. Posteriormente é adicionado à cerveja o *kieselguhr*, passando para o filtro de *kieselguhr*. Neste, são retiradas as partículas existentes e a levedura remanescente.

De seguida adiciona-se *polyclar-AT (PVPP)*, este tem a função de eliminar os polifenóis já complexados com as proteínas, através de um processo de adsorção, e a estabilização da cerveja durante a sua armazenagem. Após a sua adição, a cerveja passa para o filtro *PVPP*, seguindo para o filtro *trap* onde se retiram as últimas impurezas.

Posteriormente a cerveja é armazenada em tanques, de onde é encaminhada para o enchimento.

3.6 – Enchimento

A etapa final da produção de cerveja é o Enchimento, podendo a cerveja ser acondicionada em diferentes embalagens (garrafa, barril, lata...).

Antes ou após o enchimento é necessário proceder à estabilização biológica da cerveja. Esta operação poderá ser efectuada a frio (filtração esterilizante), ou a quente (recorrendo-se então à pasteurização que poderá ser praticada, ou imediatamente antes - pasteurização flash - ou, após a bebida ser introduzida na sua embalagem - pasteurização túnel). No enchimento a cerveja é acondicionada em diferentes formas (garrafa, barril, lata...) ficando disponível para ser apreciada com moderação.

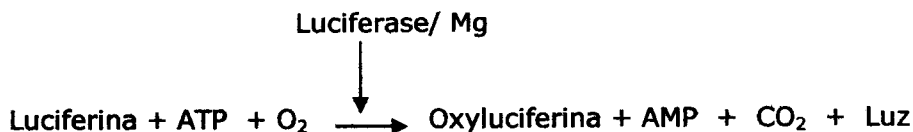
4 – BIOLUMINESCÊNCIA

4.1- Introdução

Nos últimos anos têm vindo a ser desenvolvidos diferentes métodos para a determinação de contaminantes microbianos em diferentes tipos de amostras. Com estes desenvolvimentos o tempo de detecção foi reduzido para cerca de 48-72 horas, no entanto, este tempo continua a ser excessivo para diferentes aplicações, onde é necessário uma hora ou menos.

Os métodos utilizando a bioluminescência para a detecção de contaminantes já são conhecidos há cerca de 20 anos. A bioluminescência consiste na produção de luz por organismos vivos. Nestes existe conversão de energia química em energia luminosa. Desta forma, é produzido ATP que é directamente proporcional aos microrganismos, mas também à matéria orgânica existente na amostra.

Este processo é utilizado para detectar a presença de ATP, a fonte de energia dos organismos vivos. Utilizando a uma enzima, a luciferase, é possível produzir luz na proporção do ATP presente na amostra, segundo a reacção:



Esta reacção é bastante rápida, ocorrendo alguns segundos após a adição da mistura Luciferina/Luciferase.

Existem essencialmente três áreas de aplicação deste método: controlo da higienização, testar os líquidos utilizados para a limpeza das instalações industriais e verificar o estado microbiológico dos alimentos.

4.2- Procedimento Experimental

4.2.1- Análises Realizadas

A determinação da bioluminescência foi realizada utilizando um aparelho de bioluminescência, o luminómetro cedido pela *Ambifood*, o **Lightning MVP**. Este aparelho permite determinar a bioluminescência quer de amostras líquidas quer de amostras de superfícies em apenas alguns segundos.

No caso deste estudo o líquido analisado foi a última água de enxaguamento.

Em paralelo com análise no luminómetro, procedeu-se à análise microbiológica da água de enxaguamento para uma possível comparação. A análise microbiológica consistiu na Contagem Total, ou seja, incubação da amostra em meio de cultura apropriado, utilizando a técnica de inoculação. Neste caso foi utilizado o meio de cultura UBA (*Universal Beer Agar*), e após incubação coloraram-se as amostras na estufa a 27°C durante 3 dias.

4.2.2- Amostragem

A amostragem foi realizada a cilindro-cónicas de 1000 e 3000 hl assim como ao Beer-Drive. Neste locais procedeu-se à análise quer da última água de enxaguamento, quer da superfície.

Nas cilindro-cónicas, a água de enxaguamento foi recolhida pela parte inferior da zona cónica após a sua esterilização e a análise à superfície foi realizada fazendo passar a zaragatoa da zona cónica da cuba, como se pode observar na figura 2 e 3.

No Beer-Drive a amostragem da água de enxaguamento foi realizada na tubagem pela qual é realizado o retorno da água de lavagem, tal como mostra a figura 4 e 5. A análise à superfície foi realizada fazendo passar a zaragatoa pela zona interior da referida tubagem.

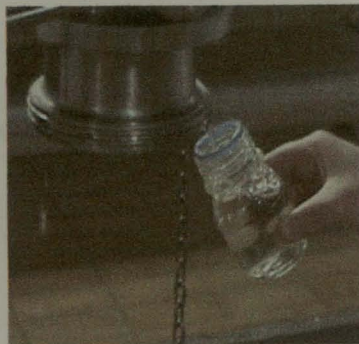


Fig. 2 - Recolha da água de lavagem nas cubas para análise no Lightning MVP.



Fig. 3 - Zaragatoa da água de lavagem nas cubas para análise no Lightning MVP.

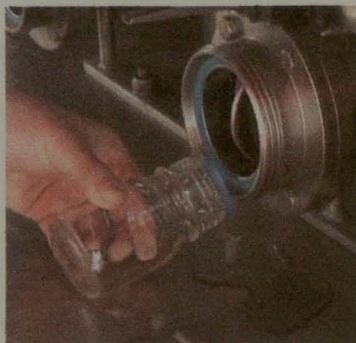


Fig. 4 - Recolha da água de lavagem no Beer-Drive para análise microbiológica.

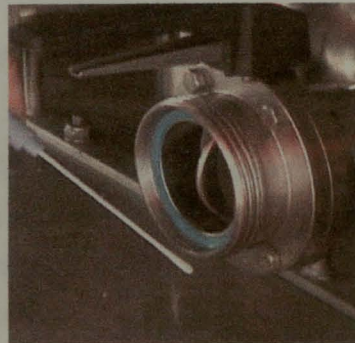


Fig. 5 - Zaragatoa da água de lavagem no Beer-Drive para análise no Lightning MVP.

4.3.1- Cubas com Resultado Microbiológico Não-Aprovado

4.3- Apresentação dos Resultados

Durante a realização deste estudo foram realizadas cerca de 70 análises a cubas e 12 análises ao Beer-Drive.

A escala de valores do aparelho consiste no seguinte:

- Até 2.5: PASSA;
- Entre 2.5 e 3.0: ALERTA;
- Maior que 3.0: NÃO PASSA.

Desta forma todos os resultados irão ser apresentados em termos de escala.

Das análises realizadas foram eliminados resultados por serem considerados resultados duvidosos devido à existência de bolores que influenciam o resultado obtido, visto que contém, proporcionalmente, mais ATP que bactérias e leveduras.

Nas figuras seguintes encontram-se as percentagens dos resultados não tratados e tratados, para cubas de 1000 e 3000 hl, respectivamente.

Resultados para Cubas de 1000 hl



Figura 6 – Representação gráfica da percentagem de resultados não tratados e tratados para cubas de 1000 hl.

Resultados para Cubas de 3000 hl



Figura 7 – Representação gráfica da percentagem de resultados não tratados e tratados para cubas de 3000 hl.

Após a selecção dos resultados obtidos e para uma melhor visualização dos mesmos, procedeu-se à separação entre cubas de 1000 e de 3000 hl. Para as cubas de 3000 hl, dado que existe um grande número de valores, procedeu-se à separação por meses, Novembro-Dezembro e Janeiro. De seguida são apresentados os resultados obtidos.

4.3.1- Cubas com Resultado Microbiológico Não-Aceitável

4.3.1.1- Água de Lavagem *de cubas de 1000 hl*

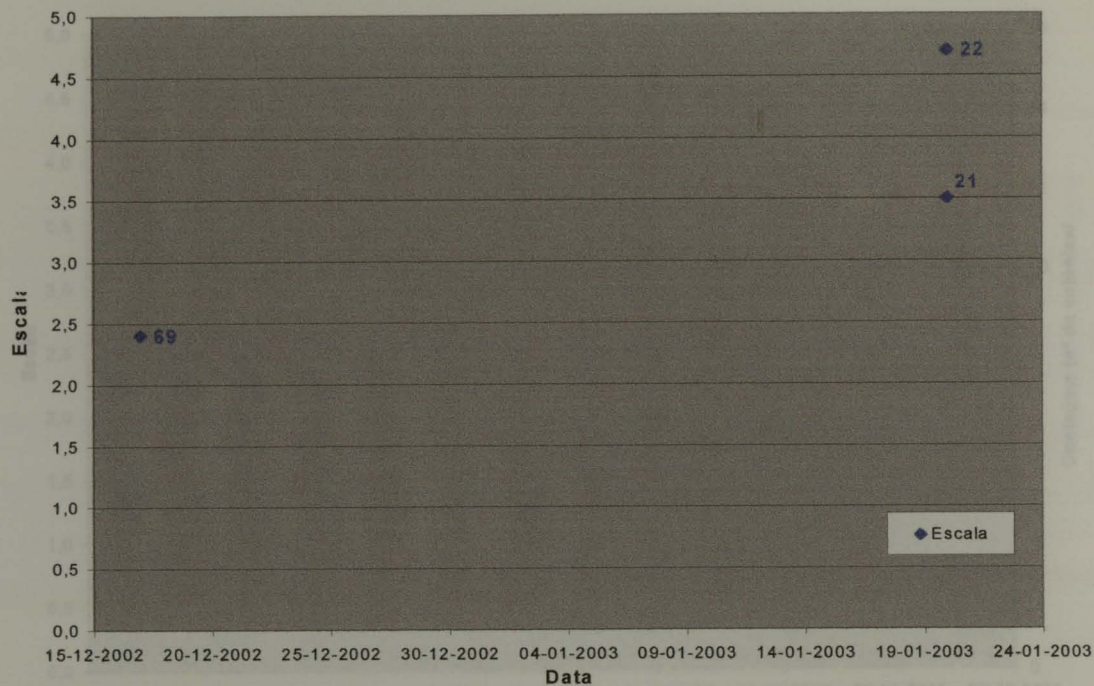


Figura 8 – Representação gráfica dos resultados da água de lavagem cuja análise microbiológica foi não-aceitável.

4.3.1.2- Superfície *de cubas de 1000 hl*

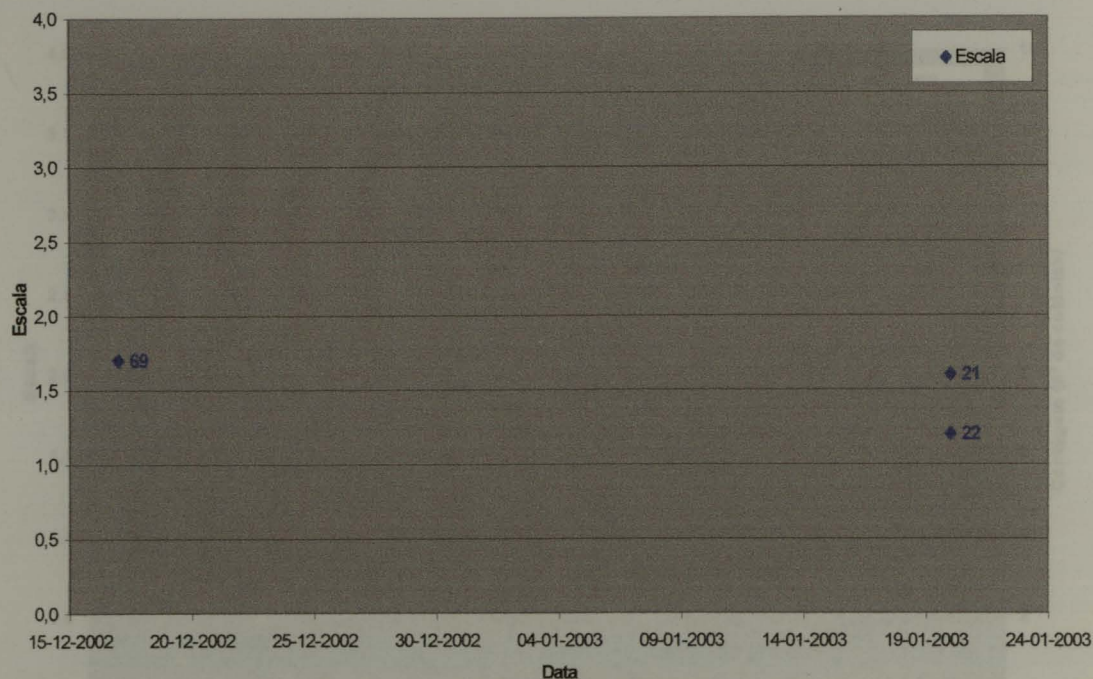


Figura 9 – Representação gráfica dos resultados da superfície cuja análise microbiológica foi não-aceitável.

4.3.2- Cubas com Análise Microbiológica Aceitável

4.3.2.1- Água de lavagem de cubas de 1000 hl

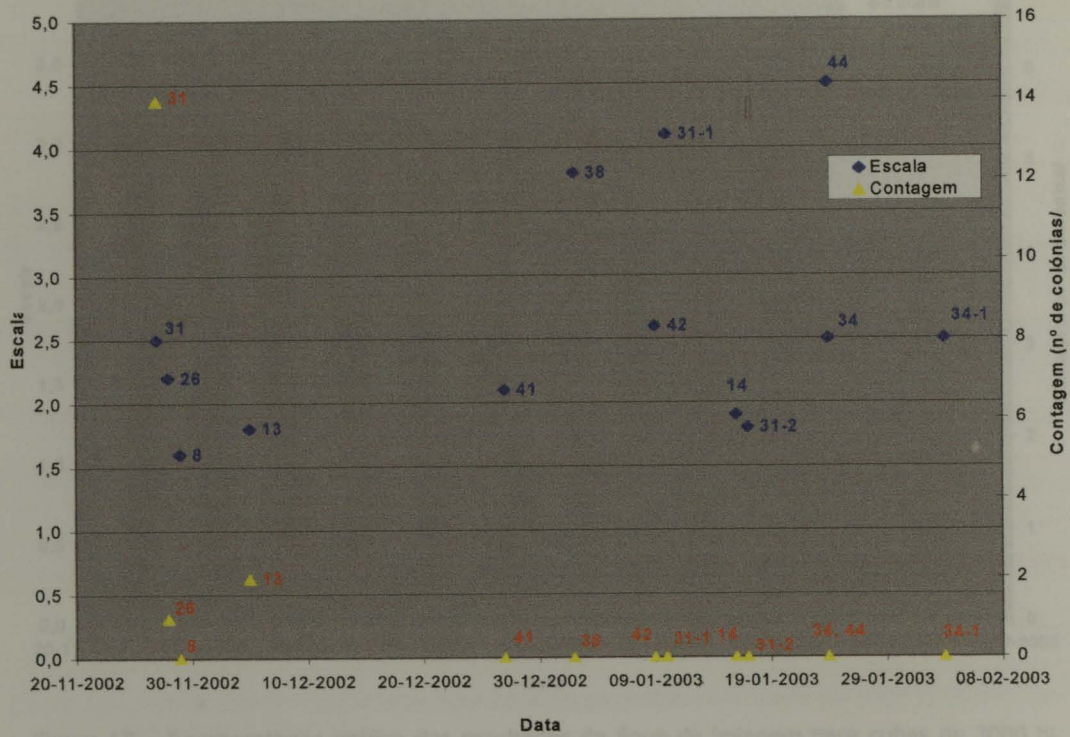


Figura 10 – Representação gráfica dos resultados da água de lavagem para cubas de 1000 hl.

4.3.2.2- Superfície de cubas de 1000 hl

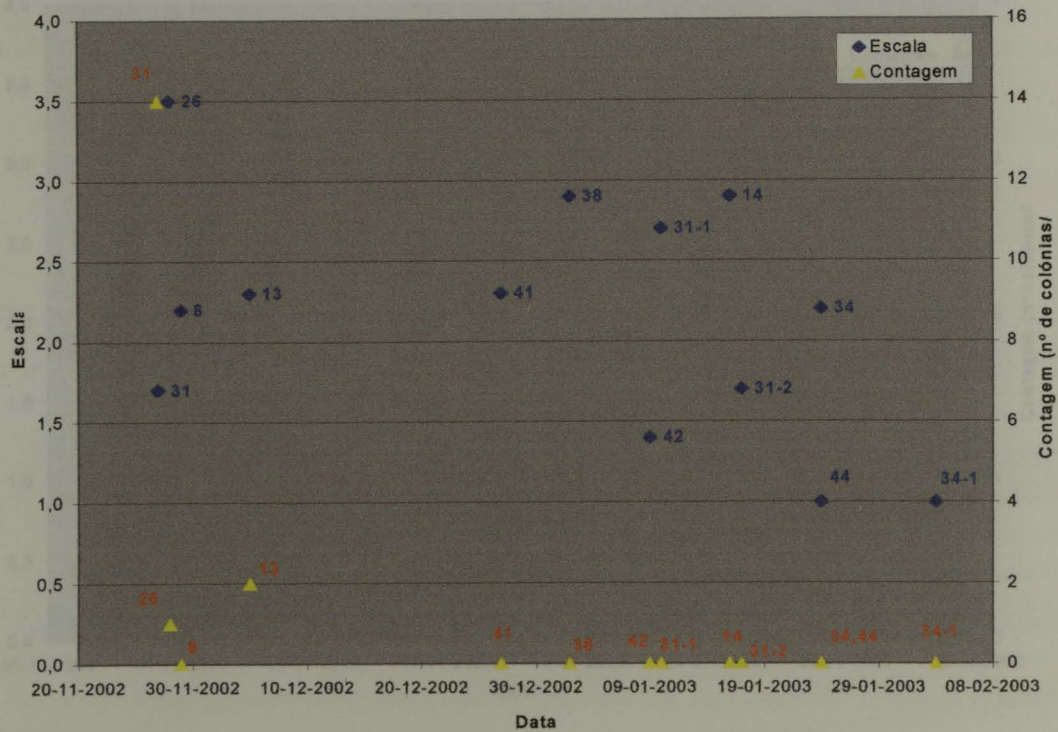


Figura 11 – Representação gráfica dos resultados da superfície para cubas de 1000 hl.

4.3.2.3- Água de lavagem de cubas de 3000 hl para o mês de Novembro e Dezembro

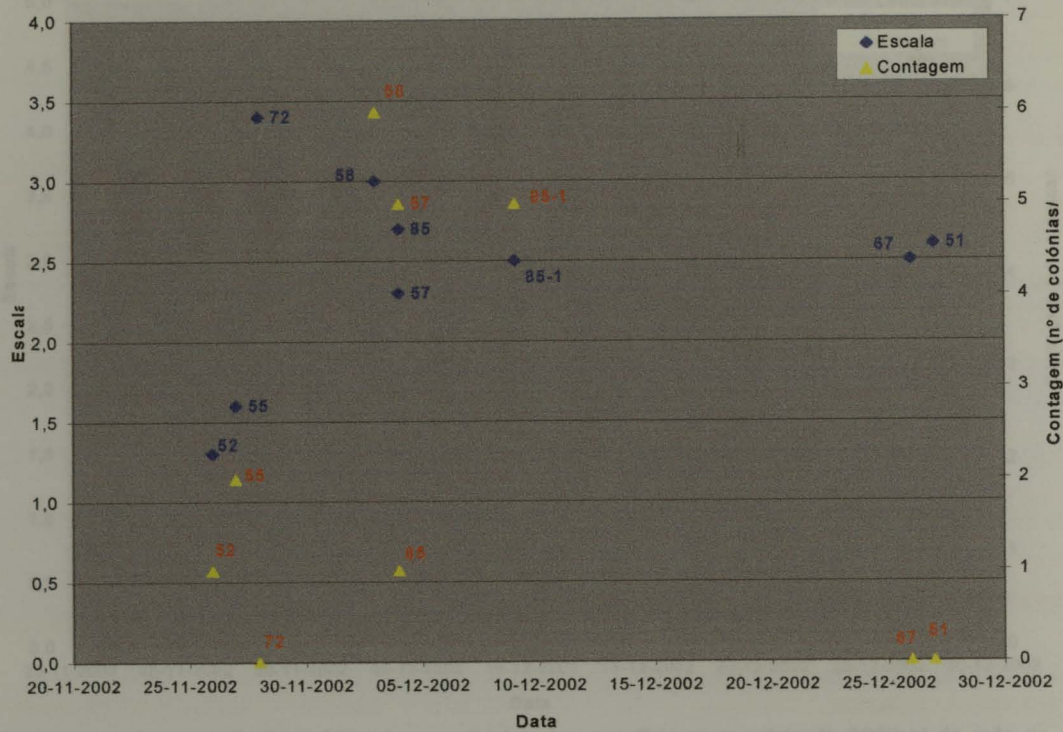


Figura 12 – Representação gráfica dos resultados da água de lavagem para cubas de 3000 hl do mês de Novembro e Dezembro.

4.3.2.4- Água de lavagem de cubas de 3000 hl para o mês de Janeiro

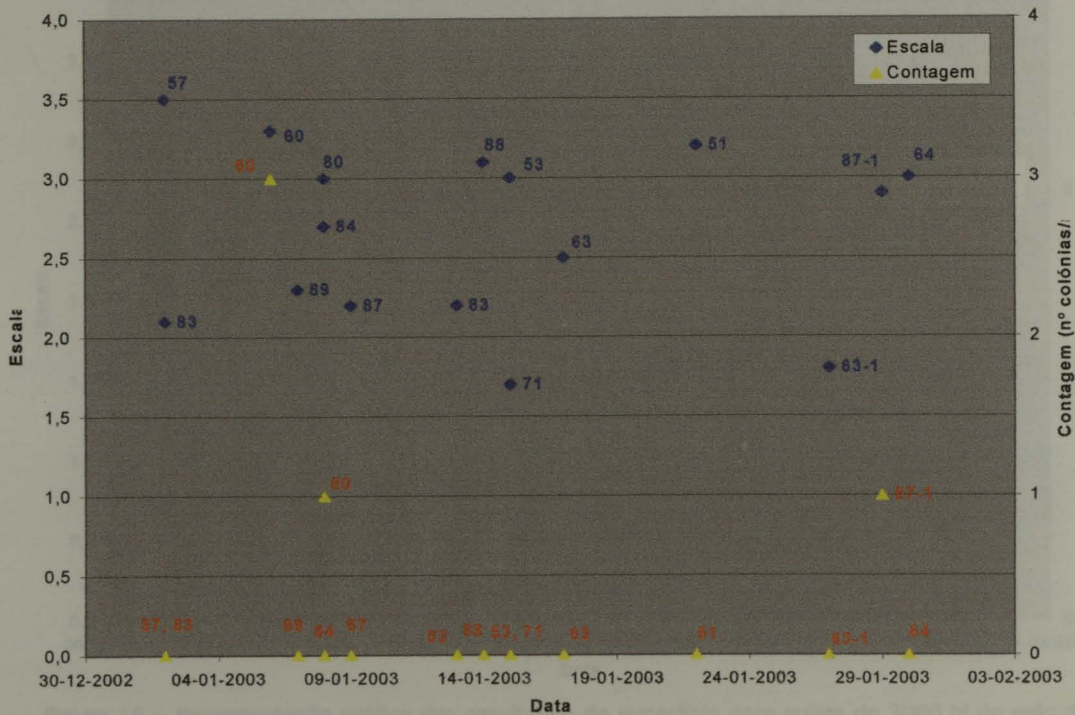


Figura 13 – Representação gráfica dos resultados da água de lavagem para cubas de 3000 hl do mês de Janeiro.

4.3.2.5- Superfície de cubas de 3000 hl para o mês de Novembro e Dezembro

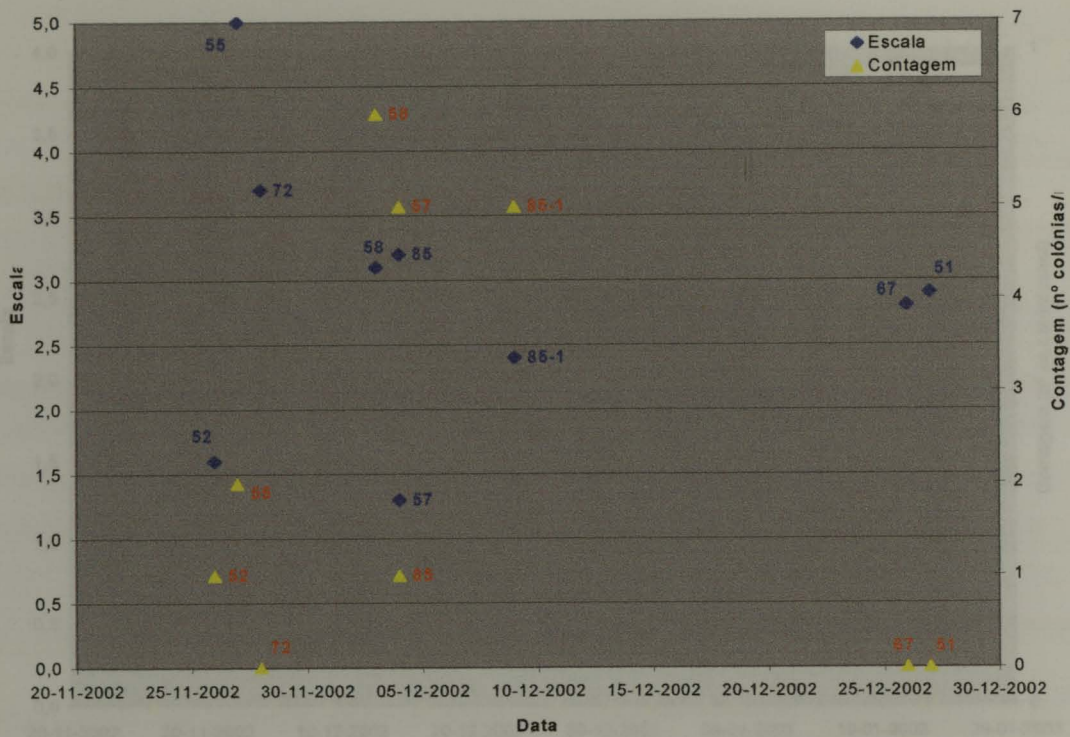


Figura 14 – Representação gráfica dos resultados da superfície para cubas de 3000 hl do mês de Novembro e Dezembro.

4.3.2.6- Superfície de cubas de 3000 hl para o mês de Janeiro

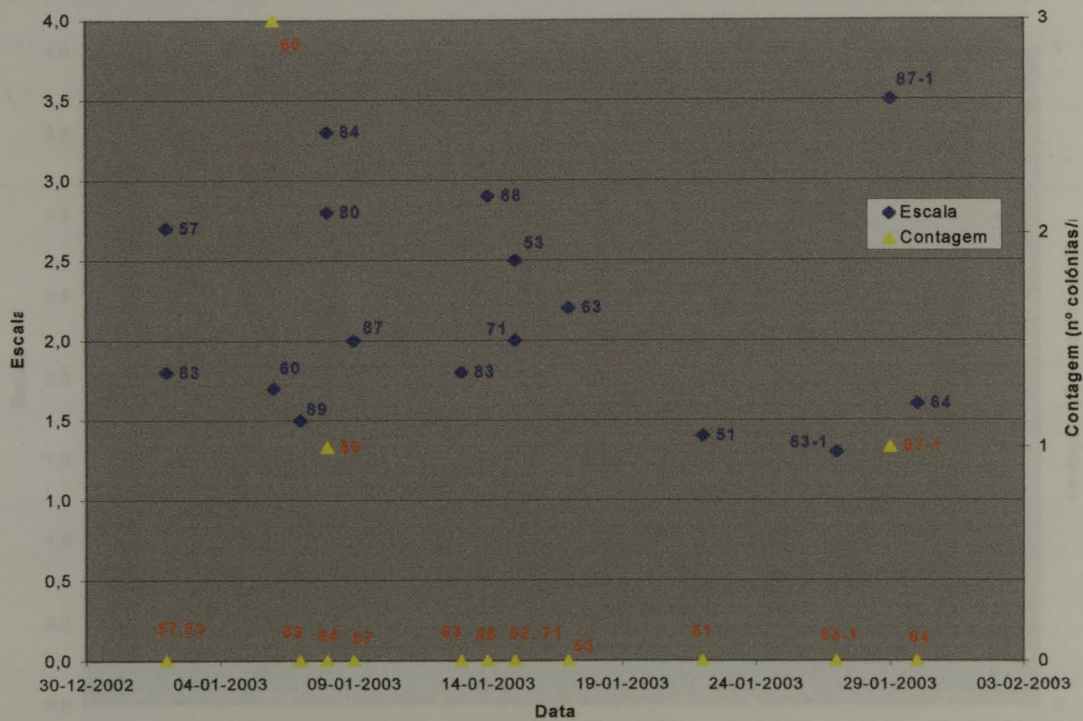


Figura 15 – Representação gráfica dos resultados da superfície para cubas de 3000 hl do mês de Janeiro.

4.3.3- Beer-Drive

4.3.3.1- Água de Lavagem

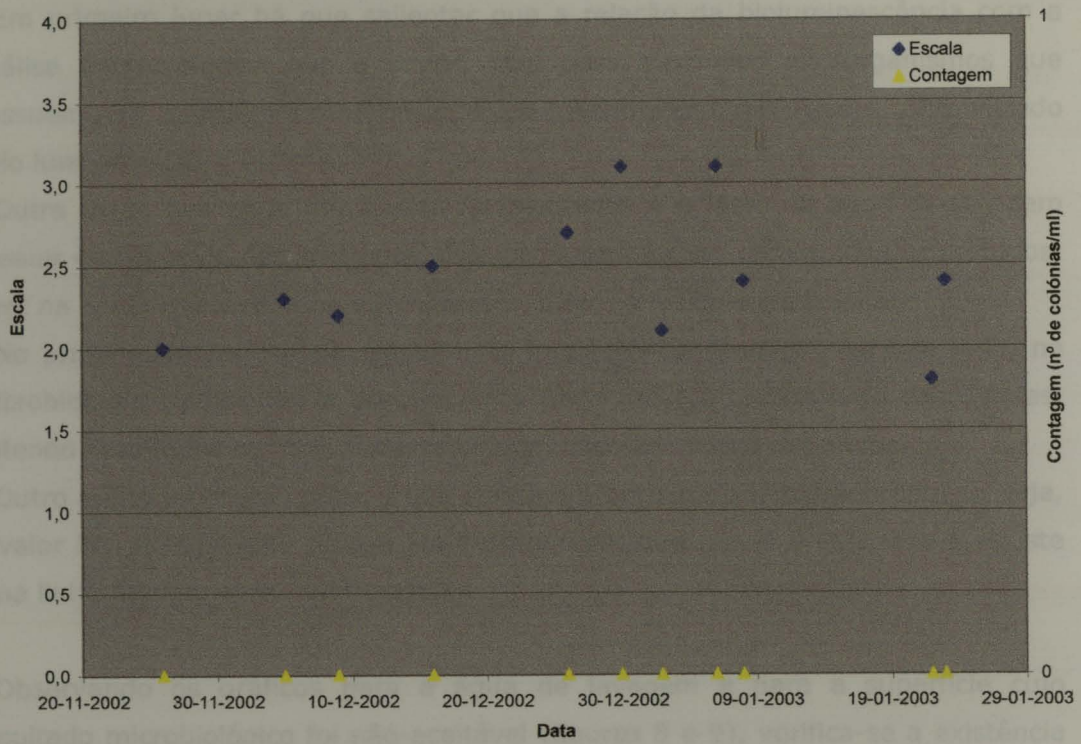


Figura 16 – Representação gráfica dos resultados da água de lavagem para o Beer-Drive.

4.3.3.2- Superfície

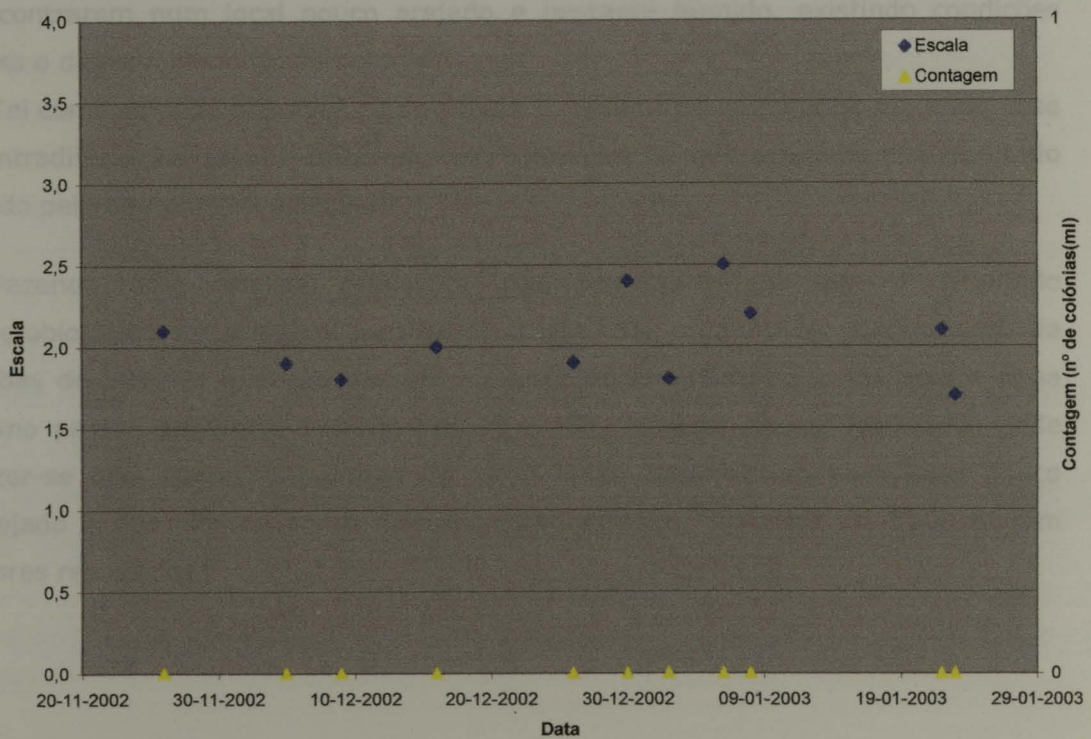


Figura 17 – Representação gráfica dos resultados da superfície para o Beer-Drive.

4.4- Discussão dos Resultados

Em primeiro lugar há que salientar que a relação da bioluminescência com a análise microbiológica não é linear, pois para além dos microrganismos que possuem ATP, também a matéria orgânica contribui com ATP, que é contabilizado pelo luminómetro.

Outra razão que pode influenciar os resultados é o facto da água de lavagem possuir vestígios de desinfectante. Este produto interfere com ambos os métodos, quer na análise realizada no luminómetro, quer no método tradicional.

No primeiro método pode existir uma interferência química. Por seu lado, na microbiologia tradicional, o desinfectante pode inibir o crescimento de colónias, obtendo resultados nulos que, na realidade, não são (falsos negativos).

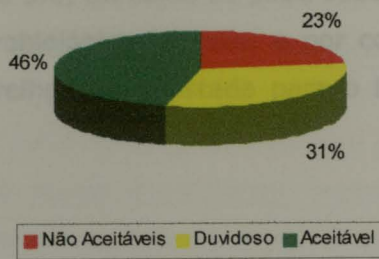
Outro ponto a ter em conta, é que existe um branco a ser considerado, ou seja, o valor lido no aparelho para a água ultra-pura, que não é 0 RLU, isto é, existe uma linha de base a ser considerada.

Observando os gráficos para a água de lavagem e para a superfície cujo resultado microbiológico foi não-aceitável (figuras 8 e 9), verifica-se a existência de uma relação entre o local da fábrica e o dia de amostragem. É de realçar o facto de dois dos resultados não-aceitáveis corresponderem a cubas 1000 hl. Esta observação pode dever-se ao facto destas cubas serem mais antigas, se encontrarem num local pouco arejado e bastante húmido, existindo condições para o desenvolvimento de bolores.

Tal como se pode observar na figura 8 e 9, verifica-se que a cuba 69, é um caso contraditório, ou seja, o resultado microbiológico foi não-aceitável e o resultado dado pelo aparelho foi aceitável.

Fazendo uma análise estatística dos resultados em que o resultado microbiológico foi aceitável verifica-se que existe uma maior percentagem de cubas de 3000 hl que não passam no teste do luminómetro tanto para a água como para a superfície (ver figuras 18 e 19). A partir destes resultados pode dizer-se que apesar das cubas de 1000 hl se encontrarem num local pouco arejado e húmido, tal como referido anteriormente, as cubas de 3000 hl têm piores resultados.

Cubas de 1000 hl - Águas de Lavagem



Cubas de 1000 hl - Águas de Lavagem

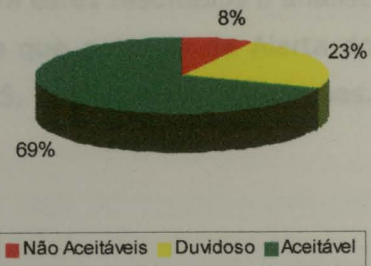
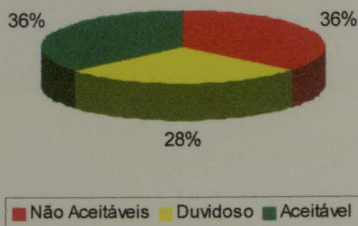


Figura 18 - Representação gráfica da percentagem de resultados que se encontram nos intervalos de escala do luminómetro, respectivamente, para a água de lavagem e superfície de cubas de 1000 hl.

Cubas de 3000 hl - Águas de Lavagem



Cubas de 3000 hl - Superfície

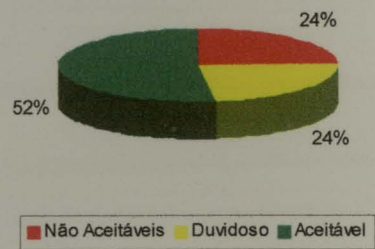


Figura 19 - Representação gráfica da percentagem de resultados que se encontram nos intervalos de escala do luminómetro, respectivamente, para a água de lavagem e superfície de cubas de 3000 hl.

Fazendo uma análise global dos resultados com análise microbiológica aceitável, verifica-se que as análises à superfície não oferecem muita confiança, dado que existem cubas em que a superfície está limpa e a água apresenta sujidade, como por exemplo, a cuba 44 (ver figura 10 e 11) e da cuba 60 (ver figura 13 e 15).

Em relação às análises da água de lavagem verifica-se uma certa coerência entre o resultado dado pelo luminómetro e a análise microbiológica, isto é, dá-nos um maior nível de confiança.

Observando os gráficos da água de lavagem, pode observa-se que a maior parte dos resultados encontra-se na gama de escala entre 1.5 e 3.0 para as cubas de 1000 hl (ver figura 10) e na gama 2.0 e 3.5 para as cubas de 3000 hl (ver figura 12 e 13). Desta forma, recomenda-se que os intervalos do aparelho sejam ajustados para que a zona de alerta passa-se a ser entre 3.0 e 3.5, visto que para as gamas de escala referidas a análise microbiológica foi quase sempre nula.

Em relação aos resultados para o Beer-Drive, verifica-se que, para a água de lavagem, a maior parte dos resultados encontra-se na escala compreendida entre 2.0 e 3.0, tal como se pode observar na figura 16. Para estes resultados a análise microbiológica foi nula, e por conseguinte, sugere-se que a escala de Alerta do aparelho seja ajustada para o intervalo de 3.0 a 3.5, tal como para as cubas.

4.5- Conclusão

Deste estudo pode-se concluir que a bioluminescência e o método tradicional não avaliam a mesma variável. O método tradicional identifica/quantifica os microrganismos e a bioluminescência o ATP existente na amostra que é produzido quer pelos microrganismos quer pela matéria orgânica, ou seja, o ATP total.

Não foram encontrados impedimentos operacionais com o funcionamento do luminómetro. Pelo contrário, todos se mostraram interessados nesta tecnologia.

No que respeita à viabilidade do aparelho, pode-se concluir que seria útil adquirir um exemplar pela empresa, para o usufruto de todos.

Este aparelho teria uma aplicabilidade para o produto acabado.

Bibliografia

- Cabrita, João; Guerra, Maria M.B.; Maria, Manuel L.; Leão, Jorge; Martins, Manuel; *Curso de Produção de Cerveja*, UNICER, E.P., 1985;
- Documentação interna do Serviço de Relações Públicas da Unicer;
- Clerck, Jean; *Cours de Brasserie*; Vol 1 e 2, 2º Ed. Heverlec; Louvain - Belgique;
- Lewis, Michael; Young, Tom; *Brewing*; Chapman & Hall; London, 1995;
- <http://www.unicer.pt>

ANEXO I

Neste anexo encontram-se os resultados obtidos com o luminómetro, bem como os resultados das análises microbiológica para as cubas de 1000 e 3000 hl e para o Beer-Drive.

I.1 – Cubas com Resultado Microbiológico Não-Aceitável**I.1.1 – Água de Lavagem**

Tabela I.1 – Resultados obtidos da água de lavagem para cubas com resultado microbiológico não-aceitável.

Data	Nº da Cuba	Aparelho-MVP			Resultado			Microbiologia	
		Escala	RLU	Observação	Resultado	Contagem	Tipo	Microbiologia	
								Resultado	Contagem
17-12-2002	69	2,4	2653	PASSOU	Não Aceitável	Incontável	Leveduras, Pediococcus e Lactobacillus		
20-01-2003	22	4,7	485139	NÃO PASSOU	Não Aceitável	Incontável	Lactobacillus e Leveduras		
20-01-2003	21	3,5	32725	NÃO PASSOU	Não Aceitável	Incontável	Lactobacillus		

I.1.2 – Superfície

Tabela I.2 – Resultados obtidos da superfície para cubas com resultado microbiológico não-aceitável.

Data	Nº da Cuba	Resultado		Observações	Microbiologia			
		Escala	RLU		Resultado	Contagem	Tipo	
								Resultado
17-12-2002	69	1,7	527	PASSOU	Não Aceitável	Incontável	Leveduras, Pediococcus e Lactobacillus	
20-01-2003	22	1,2	175	PASSOU	Não Aceitável	Incontável	Lactobacillus e Leveduras	
20-01-2003	21	1,6	429	PASSOU	Não Aceitável	Incontável	Lactobacillus	

I.2 - Cubas de 1000 hl com Resultado Microbiológico Aceitável**I.2.1 - Água de Lavagem**

Tabela I.3 - Resultados obtidos da água de lavagem para cubas de 1000 hl com resultado microbiológico aceitável.

Data	Nº da Cuba	Aparelho-MVP			Resultado			Microbiologia Contagem	Tipo
		Escala	RLU	Observação	Resultado	Contagem			
27-11-2002	31	2,5	3441	ALERTA	Aceitável	14	Pediococcus		
28-11-2002	26	2,2	1686	PASSOU	Aceitável	1	Lactobacillus		
29-11-2002	8	1,6	400	PASSOU	Satisfatório	0			
05-12-2002	13	1,8	608	PASSOU	Aceitável	2	Leveduras		
27-12-2002	41	2,1	1139	PASSOU	Satisfatório	0			
02-01-2003	38	3,8	70069	NÃO PASSOU	Satisfatório	0			
09-01-2003	42	2,6	3623	ALERTA	Satisfatório	0			
10-01-2003	31	4,1	130263	NÃO PASSOU	Satisfatório	0			
16-01-2003	14	1,9	854	PASSOU	Satisfatório	0			
17-01-2003	31	1,8	600	PASSOU	Satisfatório	0			
24-01-2003	44	4,5	283156	NÃO PASSOU	Satisfatório	0			
24-01-2003	34	2,5	3437	ALERTA	Satisfatório	0			
03-02-2003	34	2,5	3408	ALERTA	Satisfatório	0			

I.2.2 - Superfície

Tabela I.4 - Resultados obtidos da superfície para cubas de 1000 hl com resultado microbiológico aceitável.

Data	Nº da Cuba	Resultado					
		Aparelho-MVP		Microbiologia			
		Escala	RLU	Observações	Resultado	Contagem	Tipo
27-11-2002	31	1,7	488	PASSOU	Aceitável	14	Pediococcus
28-11-2002	26	3,5	35273	NÃO PASSOU	Aceitável	1	Lactobacillus
29-11-2002	8	2,2	1684	PASSOU	Satisfatório	0	
05-12-2002	13	2,3	2147	PASSOU	Aceitável	2	Leveduras
27-12-2002	41	2,3	1739	PASSOU	Satisfatório	0	
02-01-2003	38	2,9	8060,0	ALERTA	Satisfatório	0	
09-01-2003	42	1,4	242	PASSOU	Satisfatório	0	
10-01-2003	31	2,7	5212	ALERTA	Satisfatório	0	
16-01-2003	14	2,9	7389	ALERTA	Satisfatório	0	
17-01-2003	31	1,7	485	PASSOU	Satisfatório	0	
24-01-2003	44	1,0	100	PASSOU	Satisfatório	0	
24-01-2003	34	2,2	1594	PASSOU	Satisfatório	0	
03-02-2003	34	1,0	100	PASSOU	Satisfatório	0	

I.3 – Cubas de 3000 hl com Resultado Microbiológico Aceitável**I.3.1 – Água de Lavagem**

Tabela I.5 – Resultados obtidos da água de lavagem para cubas de 3000 hl com resultado microbiológico aceitável.

Data	Nº da Cuba	Aparelho-MVP			Resultado			Microbiologia	Tipo
		Escala	RLU	Observação	Resultado	Contagem			
26-11-2002	52	1,3	218	PASSOU	Aceitável	1		Lactobacillus	
27-11-2002	55	1,6	382	PASSOU	Aceitável	2		Lactobacillus	
28-11-2002	72	3,4	27885	NÃO PASSOU	Satisfatório	0			
03-12-2002	58	3,0	9092	ALERTA	Aceitável	6		Leveduras e Lactobacillus	
04-12-2002	85	2,7	4689	ALERTA	Aceitável	1		Lactobacillus	
04-12-2002	57	2,3	1912	PASSOU	Aceitável	5		Leveduras	
09-12-2002	85-1	2,5	3341	ALERTA	Aceitável	5		Leveduras	
26-12-2002	67	2,5	3489	ALERTA	Satisfatório	0			
27-12-2002	51	2,6	4010	ALERTA	Satisfatório	0			
02-01-2003	57	3,5	35412	NÃO PASSOU	Satisfatório	0			
02-01-2003	83	2,1	1281	PASSOU	Satisfatório	0			
06-01-2003	60	3,3	20396	NÃO PASSOU	Aceitável	3			
07-01-2003	89	2,3	2212	PASSOU	Satisfatório	0			
08-01-2003	84	2,7	5565	ALERTA	Satisfatório	0			
08-01-2003	80	3,0	9770	ALERTA	Aceitável	1			
09-01-2003	87	2,2	1678	PASSOU	Satisfatório	0			
13-01-2003	83	2,2	1521	PASSOU	Satisfatório	0			
14-01-2003	88	3,1	14007	NÃO PASSOU	Satisfatório	0			
15-01-2003	53	3,0	10484	NÃO PASSOU	Satisfatório	0			
15-01-2003	71	1,7	491	PASSOU	Satisfatório	0			
17-01-2003	63	2,5	2928	PASSOU	Satisfatório	0			
22-01-2003	51	3,2	16945	NÃO PASSOU	Satisfatório	0			
27-01-2003	63	1,8	696	PASSOU	Satisfatório	0			
29-01-2003	87	2,9	8458	ALERTA	Aceitável	1		Leveduras	
30-01-2003	64	3,0	9249	ALERTA	Satisfatório	0			

I.3.2 - Superfície

Tabela I.6 - Resultados obtidos da superfície para cubas de 3000 hl com resultado microbiológico aceitável.

Data	Nº da Cuba	Resultado				Microbiologia	
		Aparelho-MVP		Resultado	Contagem	Tipo	
		Escala	Observações				
26-11-2002	52	1,6	361	PASSOU	Aceitável	1	Lactobacillus
27-11-2002	55	5,0	1018045	NÃO PASSOU	Aceitável	2	Lactobacillus
28-11-2002	72	3,7	52127	NÃO PASSOU	Satisfatório	0	
03-12-2002	58	3,1	13448	NÃO PASSOU	Aceitável	6	Leveduras. e Lactobacillus.
04-12-2002	85	3,2	15030	NÃO PASSOU	Aceitável	1	Lactobacillus
04-12-2002	57	1,3	179	PASSOU	Aceitável	5	Leveduras
09-12-2002	85	2,4	2704	PASSOU	Aceitável	5	Leveduras
26-12-2002	67	2,8	6078	ALERTA	Satisfatório	0	
27-12-2002	51	2,9	8184	ALERTA	Satisfatório	0	
02-01-2003	57	2,7	5383	ALERTA	Satisfatório	0	
02-01-2003	83	1,8	648	PASSOU	Satisfatório	0	
06-01-2003	60	1,7	561	PASSOU	Aceitável	3	
07-01-2003	89	1,5	354	PASSOU	Satisfatório	0	
08-01-2003	84	3,3	18964	NÃO PASSOU	Satisfatório	0	
08-01-2003	80	2,8	6061	ALERTA	Aceitável	1	
09-01-2003	87	2,0	1050	PASSOU	Satisfatório	0	
13-01-2003	83	1,8	627	PASSOU	Satisfatório	0	
14-01-2003	88	2,9	8624	ALERTA	Satisfatório	0	
15-01-2003	53	2,5	3163	ALERTA	Satisfatório	0	
15-01-2003	71	2,0	905	PASSOU	Satisfatório	0	
17-01-2003	63	2,2	1413	PASSOU	Satisfatório	0	
22-01-2003	51	1,4	234	PASSOU	Satisfatório	0	
27-01-2003	63	1,3	202	PASSOU	Satisfatório	0	
29-01-2003	87	3,5	33314	NÃO PASSOU	Aceitável	1	Leveduras
30-01-2003	64	1,6	358	PASSOU	Satisfatório	0	

I.4 – Beer-Drive

I.4.1 – Água de Lavagem

Tabela I.7 – Resultados obtidos da água de lavagem para o Beer-Drive.

Data	Resultado					
	Aparelho-MVP			Microbiologia		
	Escala	RLU	Observação	Resultado	Contagem	Tipo
26-11-2002	2,0	1113	PASSOU	Satisfatório	0	
05-12-2002	2,3	1898	PASSOU	Satisfatório	0	
09-12-2002	2,2	1520	PASSOU	Satisfatório	0	
16-12-2002	2,5	2998	PASSOU	Satisfatório	0	
26-12-2002	2,7	5204	ALERTA	Satisfatório	0	
30-12-2002	3,1	13029	NÃO PASSOU	Satisfatório	0	
02-01-2003	2,1	1196	PASSOU	Satisfatório	0	
06-01-2003	3,1	13109	NÃO PASSOU	Satisfatório	0	
08-01-2003	2,4	2526	PASSOU	Satisfatório	0	
22-01-2003	1,8	637	PASSOU	Satisfatório	0	
23-01-2003	2,4	2336	PASSOU	Satisfatório	0	

I.4.2 - Superfície

Tabela I.8 - Resultados obtidos da superfície para o Beer-Drive.

Data	Resultado		Observações	Microbiologia	
	Escala	RLU		Resultado	Contagem
26-11-2002	2,1	1130	PASSOU	Satisfatório	0
05-12-2002	1,9	847	PASSOU	Satisfatório	0
09-12-2002	1,8	602	PASSOU	Satisfatório	0
16-12-2002	2,0	1089	PASSOU	Satisfatório	0
26-12-2002	1,9	801	PASSOU	Satisfatório	0
30-12-2002	2,4	2289	PASSOU	Satisfatório	0
02-01-2003	1,8	590	PASSOU	Satisfatório	0
06-01-2003	2,5	2927	PASSOU	Satisfatório	0
08-01-2003	2,2	1673	PASSOU	Satisfatório	0
22-01-2003	2,1	1187	PASSOU	Satisfatório	0
23-01-2003	1,7	457	PASSOU	Satisfatório	0





FACULDADE DE ENGENHARIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

BIBLIOTECA



0000088388