

Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Ana Catarina Moreira de Carvalho

**Cerveja artesanal *Sovina*: estudo de flavour
e harmonizações com alimentos**

Ana Catarina Moreira de Carvalho **Cerveja artesanal *Sovina*: estudo de flavour e harmonizações com alimentos**

UMinho | 2018

junho de 2018



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Ana Catarina Moreira de Carvalho

**Cerveja artesanal *Sovina*: estudo de flavour
e harmonizações com alimentos**

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar

Trabalho realizado sob orientação da
Professora Doutora Lígia Raquel Marona Rodrigues
e do
Professor Doutor Duarte Paulo Martins Torres

junho de 2018

DECLARAÇÃO

Nome: Ana Catarina Moreira de Carvalho

Endereço eletrónico: acatmcarvalho@gmail.com Telefone: 919286211

Bilhete de Identidade/Cartão do Cidadão: 123456789

Título da dissertação: Cerveja artesanal *Sovina*: estudo de flavour e harmonizações com alimentos

Orientador/a/es:

Professora Doutora Lígia Raquel Marona Rodrigues

Professor Doutor Duarte Paulo Martins Torres

Ano de conclusão: 2018

Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Universidade do Minho, 28/06/2018

Assinatura:

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero expressar o meu profundo agradecimento ao Professor Duarte Torres, por toda a ajuda, sugestões e correções, sem as quais este trabalho não teria sido possível;

Quero também agradecer à Professora Lígia Rodrigues pela disponibilidade que revelou ao longo deste período;

Agradeço à Paula Abreu Martins, pelo excelente acolhimento na *Sovina* e por todo o apoio dado ao projeto;

À minha família, em especial ao meu Pai e ao Vasco, agradeço todo o apoio, incentivo, carinho e toda a paciência que sempre demonstraram;

Por fim, agradeço ao Tiago por estar ao meu lado incondicionalmente e nunca me deixar desistir.

RESUMO

As cervejas são classificadas em numerosos estilos consoante as distintas características organoléticas que apresentam. Este facto sugere que, a nível gastronómico, diferentes cervejas possam harmonizar de forma ideal com diferentes alimentos. A teoria de *food pairing* é um método científico que permite definir as melhores combinações entre alimentos com base no seu perfil aromático. De acordo com esta teoria, dois alimentos combinam bem juntos se partilharem, entre si, aromas-chave. Assim, no âmbito desta dissertação, propôs-se desenvolver e validar metodologias de harmonização que permitissem obter as melhores combinações para cada cerveja artesanal *Sovina*, baseadas nos princípios de *food pairing* e considerando as características de *flavour* específicas de cada cerveja.

Numa primeira fase foi efetuada uma análise por GC-MS às seis cervejas regulares *Sovina* de forma a identificar os respetivos perfis de compostos voláteis e, desse modo, permitir distinguir as cervejas entre si. A análise de diferenças entre cervejas foi realizada por análise de componentes principais (PCA). Numa segunda fase, foram desenvolvidas metodologias baseadas em duas abordagens de harmonização distintas: partilha de compostos voláteis (M1) ou partilha de descritores de aroma totais ou de relevo (M2.1 e M2.2). Uma pré-validação destas metodologias passou pela análise de correlação (Pearson) dos resultados com os obtidos pelo *software* foodpairing® e por comparação com dados de preferência de consumidores.

A análise PCA permitiu distinguir as várias cervejas, sugerindo, contudo, que as cervejas *Helles*, *Bock* e *Amber* são as mais semelhantes entre si. Relativamente às metodologias de harmonização, M1 apresentou correlação positiva fraca, sem significado estatístico com o foodpairing®, ao passo que, para M2.1 e M2.2 a correlação foi negativa fraca, sem significado estatístico. Por sua vez, os dados de preferência de consumidores por pares cerveja-alimento com a cerveja *Helles*, demonstraram ser consistentes com os resultados obtidos pela metodologia M1, parecendo relacionar-se positivamente com estes.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram a complexidade associada ao estudo do *flavour* e não permitem validar as metodologias de acordo com o método foodpairing®, apresentando fracas correlações com o mesmo. A comparação com a preferência de consumidores, por outro lado, sugere o potencial sucesso da metodologia M1, demonstrando a necessidade de ser realizada, futuramente, uma validação mais robusta desta metodologia.

PALAVRAS-CHAVE: CERVEJA, VOLÁTEIS, AROMA, *FLAVOUR*, HARMONIZAÇÃO

ABSTRACT

Beers can be classified in many styles, depending on the different organoleptic characteristics they present. This suggests that, at the gastronomic level, different beer styles may pair with some foods better than with others. The food pairing theory is a scientific method that proposes the definition of the best pairings between foods based on their aromatic profiles. According to this theory, foods pair well together if they share, with each other, aromas that are relevant. Therefore, the main aim of this work was to develop and validate methodologies of harmonization that can produce the best food pairings for *Sovina* craft beers, considering the principles of food pairing and the specific flavour characteristics of each beer.

First, a chromatographic analysis of the six *Sovina* beers was performed by GC-MS, in order to identify the volatile profile of each bear. The analysis of these results allows to differentiate the beers through a principal component analysis (PCA). Then, methodologies of pairing beer and foods were conceived based on two distinctive approaches: sharing volatile compounds (M1) or sharing aroma descriptors – total (M2.1) or relevant (M2.2). A pre-validation of these methodologies was done by correlating (with Pearson correlation coefficient) the results obtained in this work with those from the company foodpairing®, and by comparing the results with data on consumer's preference.

PCA analysis allowed to distinguish the beers, being *Helles*, *Bock* and *Amber*, the most similar. Regarding the pairing methodologies, M1 presented a positive, but weak correlation, with no statistical significance with foodpairing® method. The correlation between foodpairing® method with M2.1 and M2.2 was negative and weak, thus also with no statistical significance. Data on consumer's preference for *Helles* and food pairs, on their turn, were consistent with M1 results, suggesting to be positively related to them.

The results of this work show the complexity associated with the study of flavour in foods and do not allow to validate the methodologies according to the foodpairing® method, presenting weak correlations. The comparison with consumer's preference data, on the other hand, suggests the potential success of the M1 methodology, demonstrating the need for a more robust validation of this methodology in the future.

KEYWORDS: BEER, VOLATILES, AROMA, FLAVOUR, PAIRING

ÍNDICE

Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas.....	xi
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos.....	xiii
1. Enquadramento e Objetivos.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	2
2.1 Introdução.....	2
2.1.1 Cerveja – Definição, Matérias-Primas, Estilos.....	2
2.1.2 Cerveja Artesanal.....	4
2.2 <i>Flavour</i>	5
2.2.1 Sabor e Textura (<i>Mouthfeel</i>).....	5
2.2.2 Aroma.....	7
2.3 <i>Flavour</i> da Cerveja.....	8
2.3.1 Compostos de aroma/ <i>flavour</i> na cerveja.....	8
2.3.2 Mapa de <i>Flavour</i> da Cerveja – “ <i>Beer Flavour Map</i> ”.....	12
2.3.3 Classificação de estilos de cervejas com base nas características de <i>flavour</i>	13
2.4 Harmonização Cervejas & Alimentos, teoria de <i>food pairing</i>	14
2.4.1 Abordagens à harmonização de alimentos e bebidas.....	14
2.4.2 Perspetiva de equilíbrio na harmonização de alimentos e bebidas.....	15
2.4.3 Harmonização entre alimentos – <i>foodpairing</i> ®.....	16
3. Metodologia.....	19
3.1 Cervejas.....	19
3.2 Análise de compostos voláteis e definição do perfil aromático de cervejas artesanais.....	20
3.2.1 Determinação dos compostos voláteis nas cervejas <i>Sovina</i>	20
3.2.2 Exclusão de voláteis para a definição do perfil aromático e para a análise comparativa das cervejas.....	21
3.2.3 Definição de perfis aromáticos das cervejas <i>Sovina</i>	22

3.2.4	Avaliação de diferenças no perfil aromático e de compostos voláteis das amostras de cerveja	25
3.3	Desenvolvimento e validação de metodologias para avaliar a harmonização de cervejas e alimentos	25
3.3.1	Abordagem 1 – harmonização baseada na partilha de voláteis	27
3.3.2	Abordagem 2 – harmonização baseada na partilha de aromas	28
3.3.3	Comparação das abordagens em estudo com dados de preferência de consumidores	29
4.	Resultados e Discussão	31
4.1	Análise de compostos voláteis, definição do perfil aromático e distinção entre cervejas artesanais	31
4.1.1	Determinação do perfil de compostos voláteis das cervejas em estudo	31
4.1.2	Determinação do impacto aromático dos voláteis identificados	34
4.1.3	Definição do perfil aromático para cada uma das cervejas <i>Sovina</i>	36
4.1.4	Avaliação de diferenças entre as várias cervejas em estudo	39
4.2	Avaliação de metodologias de harmonização de cervejas e alimentos	50
4.2.1	Metodologia de harmonização baseada na partilha de voláteis	50
4.2.2	Metodologia de harmonização baseada na partilha de aromas	54
5.	Conclusões e Perspetivas Futuras	57
	Bibliografia	59
	Anexo I – Voláteis identificados nas amostras de cerveja	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação de categorias de estilos consoante as respetivas características de flavour. Adaptado a partir de The Chemistry of Beer - The Science in the Suds (Barth, 2013).....	13
Figura 2 – Classificação de famílias de estilos consoante as respetivas características de flavour e associação das cervejas em estudo a categorias dependendo das características associadas aos estilos correspondentes.....	19
Figura 3 – Percentagens de probabilidade de identificação dos compostos voláteis identificados nas 6 amostras com base na NIST14 e linhas de tendência definidas empiricamente.	22
Figura 4 – Árvore de foodpairing® da cerveja Helles com os 10 alimentos selecionados.	26
Figura 5 – Árvore de foodpairing® da cerveja Stout com os 10 alimentos selecionados.	27
Figura 6 – <i>IRd</i> dos descritores de aroma associados à cerveja Helles. O círculo tracejado destaca os descritores valores de <i>IRd</i> superiores.	28
Figura 7 – <i>IRd</i> dos descritores de aroma associados à cerveja Stout. O círculo tracejado destaca os descritores com valores de <i>IRd</i> superiores.....	29
Figura 8 – Representação gráfica dos scores das cervejas para as duas primeiras componentes, F1 e F2, resultantes da PCA com base nos valores de <i>Rac</i> dos compostos voláteis identificados.	41
Figura 9 – Representação gráfica a 3D dos scores das cervejas para as três primeiras componentes principais, F1, F2 e F3 resultantes da PCA com base nos valores de <i>Rac</i> dos compostos voláteis identificados.	43
Figura 10 – Representação gráfica dos scores das cervejas para as duas primeiras componentes, F1 e F2, resultantes da PCA, com base nos valores de <i>Rad</i> dos descritores do perfil aromático das cervejas.	47
Figura 11 – Representação gráfica a 3D dos scores das cervejas para as três componentes principais, F1, F2 e F3, resultantes da PCA com base nos valores de <i>Rad</i> dos descritores do perfil aromático das cervejas.....	48
Figura 12 – Gráfico de correlação entre <i>IRcp</i> e os resultados foodpairing® para os pares cerveja-alimento.....	52
Figura 13 – Comparação entre os scores médios de preferência de consumidores (Carvalho, 2015) e os resultados decorrentes das metodologias foodpairing® (a) e M1 (b) relativamente às combinações da cerveja Helles com os queijos brie, camembert e mozzarella.	53

Figura 14 – Gráficos de correlação entre <i>IRdp</i> obtidos pelos métodos M2.1 ou M2.2 e os resultados foodpairing® para os pares correspondentes	55
Figura 15 – Comparação entre os scores médios de preferência de consumidores (Carvalho, 2015) e os resultados decorrentes das metodologias M2.1 e M2.2 relativamente às combinações da cerveja Helles com os queijos Brie, Camembert e Mozzarella.	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descritores identificados para os compostos voláteis identificados nas cervejas.....	24
Tabela 2 – Scores médios de preferência para os pares: Helles e Brie, Helles e Camembert e Helles e Mozzarella. Os valores são proporcionais à preferência. Os scores dos 3 pares apresentam diferenças estatisticamente significativas, de acordo com o teste de Friedman ($p < 0,01$) (Carvalho, 2015).	30
Tabela 3 – Compostos voláteis identificados por GC-MS nas 6 cervejas em estudo e respectivos valores de área do pico cromatográfico.....	32
Tabela 4 – Perfil de compostos voláteis de cada uma das 6 cervejas <i>Sovina</i> – valores relativos da área dos picos cromatográficos (%).	33
Tabela 5 – Valores de <i>Rac</i> dos compostos voláteis identificados nas cervejas.....	34
Tabela 6 – Valores de <i>IRc</i> (%) para os compostos voláteis identificados nas cervejas.	35
Tabela 7 – Descritores aromáticos considerados para os voláteis identificados e respectivos <i>Rad</i> para as cervejas em estudo.....	36
Tabela 8 – Autovalores obtidos na PCA e valores de variância individuais e acumulados – Metodologia 1, com base nos valores de <i>Rac</i> dos compostos voláteis identificados nas cervejas	39
Tabela 9 – Loadings das variáveis, <i>Rac</i> dos compostos voláteis identificados nas cervejas, relativamente às três componentes obtidas por PCA. A negrito estão assinalados os loadings cujo valor é igual ou superior a 0,6.....	40
Tabela 10 – Scores das amostras de cerveja para as três componentes resultantes da PCA. Metodologia 1 com base nos valores de <i>Rac</i> dos compostos voláteis identificados nas cervejas.	40
Tabela 11 – Autovalores obtidos na PCA e valores de variabilidade individuais e acumulados – Metodologia 2 com base nos valores de <i>Rad</i> dos descritores do perfil aromático das cervejas.	44
Tabela 12 – Loadings das variáveis, <i>Rad</i> dos descritores do perfil aromático das cervejas, relativamente às três componentes obtidas por PCA. A negrito estão assinalados os loadings cujo valor é igual ou superior a 0,6.....	45
Tabela 13 – Scores das amostras de cerveja para as três componentes resultantes da PCA. Metodologia 2 com base nos valores de <i>Rad</i> dos descritores do perfil aromático das cervejas.	46
Tabela 14 – <i>IRcp</i> para as combinações dos alimentos selecionados com as cervejas <i>Helles</i> ou <i>Stout</i> (M1) e respectivos resultados de foodpairing®.	51
Tabela 15 – <i>IRdp</i> para as combinações dos alimentos selecionados com as cervejas <i>Helles</i> ou <i>Stout</i> (M2) e respectivos resultados de foodpairing®.	54

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

BFM – *Beer Flavour Map*;

FU – Unidades de *flavour*;

GC-MS – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa;

HC – Hidratos de carbon;

NIST – National *Institute of Standards and Technology*;

IR_c – Impacto relativo dos voláteis no alimento;

IR_d – Impacto relativo dos descritores de aroma nos alimentos;

IR_{cp} – Impacto relativo dos compostos partilhados no perfil aromático de um par de alimentos;

PCA – Análise de componentes principais;

Ra_c – Rácio absoluto entre a área do pico e o limiar de perceção dos compostos voláteis;

Ra_d – Medida quantitativa absoluta dos descritores de aroma nos alimentos;

RI – Índice de Kovats;

VCF – *Volatile Compounds in Food* .

1. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS

A *Sovina*, fundada em 2011, foi a primeira cerveja artesanal portuguesa. Na *Sovina* são produzidas regularmente 6 cervejas de diversos estilos – *Sovina Trigo* (Weissbier), *Sovina Amber* (Bière de Garde), *Sovina Helles* (Munich Helles), *Sovina IPA* (India Pale Ale), *Sovina Stout* (Dry Stout), *Sovina Bock* (Helles Bock). São ainda produzidas cervejas sazonais, como por exemplo a *Sovina Natal* (Christmas Ale) e cervejas especiais, como a *Sovina Amber Vintage* (maturada em casco de Vinho do Porto). Assim, a empresa evidencia o esforço de inovação constante, com o desenvolvimento e lançamento de novas cervejas, de diferentes estilos, com diferentes aromas e sabores. A *Sovina* é também pioneira, em Portugal, a explorar o conceito de foodpairing®.

O foodpairing® consiste numa abordagem científica para a harmonização gastronómica de alimentos baseada na similaridade do perfil de compostos voláteis, onde, resumidamente, se entende que dois alimentos que apresentem uma elevada semelhança de aromas-chave e *flavours* combinarão bem sensorialmente se forem consumidos em conjunto.

Existe, assim, o interesse em elevar a experiência sensorial do consumo de cerveja ao nível de outras bebidas, como por exemplo, o caso do vinho, surgindo a necessidade de (i) desenvolver estratégias de promover a bebida junto dos consumidores; (ii) sugerir novas formas de a consumir; e (iii) otimizar a experiência sensorial e gastronómica do consumo de cerveja através do desenvolvimento de ferramentas e instruções de harmonização adaptadas às características próprias da cerveja.

Estas questões são relevantes para a promoção da satisfação dos clientes e consumidores, que é uma componente integrante e fundamental da qualidade dos produtos e serviços relacionados com a indústria alimentar.

Assim, no âmbito deste trabalho, identificam-se alguns objetivos relacionados com estas questões nomeadamente:

- (i) Estudo e definição do perfil aromático das cervejas da marca;
- (ii) Avaliação de diferenças no perfil aromático das várias cervejas;
- (iii) Estudo e desenvolvimento de metodologia(s) científica(s) de harmonização entre cervejas e alimentos, que possibilitem a definição de orientações acerca dos melhores pares gastronómicos para cada uma das cervejas produzidas pela marca.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Introdução

2.1.1 Cerveja – Definição, Matérias-Primas, Estilos

De acordo com a Portaria nº1/96 de 3 de janeiro, a cerveja pode ser definida como a “bebida obtida por fermentação alcoólica, mediante leveduras selecionadas do género *Sacharomyces*, de um mosto preparado a partir de malte de cereais, principalmente cevada, e outras matérias-primas amiláceas ou açucaradas, ao qual foram adicionadas flores de lúpulo ou seus derivados e água potável”.

Assim, a partir da definição anterior é possível enumerar as 4 matérias-primas básicas usadas no processo produtivo de cerveja, sendo ainda definida uma categoria extra:

(a) Água – principal componente da cerveja, corresponde a cerca de 90% (Barth, 2013). A composição da água em minerais e as suas características de dureza afetam a qualidade da cerveja produzida de forma complexa. Diferentes cervejas podem exigir diferentes tipos de água, pelo que pode ser necessário ajustar a composição água para produzir a cerveja (Dredge, 2014).

(b) Malte de cereais – responsável pela capacidade fermentativa do mosto. Os cereais maltados usados no processo são o veículo de açúcares que consistem no substrato da fermentação. Vários cereais podem ser utilizados na produção de cerveja, sendo a cevada o principal (Barth, 2013; Dredge, 2014; George, 2015). Para além deste facto, existem diversos tipos de malte que diferem consoante a sua capacidade fermentativa, a sua cor, o seu aroma e sabor e cujas diferenças condicionam diferenças ao nível dessas características organoléticas no produto final (Dredge, 2014; George, 2015).

(c) Lúpulo – importante condimento da cerveja. O lúpulo é o principal responsável pelo amargor característico da cerveja, devido à isomerização dos seus alfa-ácidos promovida pelo aquecimento durante a fervura do mosto. Adicionalmente, confere à cerveja, graças aos seus óleos essenciais, uma vasta gama de aromas e *flavours* florais, frutados, a terra, a erva, entre outros (Barth, 2013; Dredge, 2014).

A utilização de lúpulo em diferentes fases do processo produtivo condiciona o contributo diferencial deste ingrediente no produto final, tendo em conta o tipo de compostos que são extraídos, sob diferentes

condições, da matéria-prima para o mosto. A este nível, a extração de alfa-ácidos é idealmente efetuada sob condições de temperatura elevadas, pelo que, os lúpulos responsáveis pelo amargor são adicionados durante a fervura do mosto. Pelo contrário, quando o objetivo é extrair compostos de aroma, voláteis, o lúpulo é adicionado numa fase posterior, no final ou após a etapa de fervura, sob temperaturas mais baixas, já que o calor eliminaria estes compostos (Briggs, Boulton, Brookes, & Stevens, 2004).

(d) Levedura – responsável pela conversão de açúcares/hidratos de carbono fermentáveis em etanol e CO₂. Para além destes produtos maioritários da fermentação, as leveduras durante o seu metabolismo produzem também uma infinidade de outros compostos minoritários e de baixo peso molecular como ésteres e compostos fenólicos contribuindo em grande escala para o aroma e *flavour* das cervejas produzidas (Briggs et al., 2004). Existem diferentes estirpes de leveduras com diferentes propriedades que transmitem à cerveja características de aroma e *flavour* distintas. De forma geral, existem as leveduras de alta fermentação, que fermentam na gama de temperaturas 15-20 °C e originam cervejas “*ale*” e as leveduras de baixa fermentação, que fermentam a temperaturas na gama dos 10-15 °C e que produzem cervejas do tipo “*lager*” (Briggs et al., 2004). Existem ainda outros tipos de leveduras, consideradas de fermentação espontânea, das quais são exemplo as leveduras do género *Brettanomyces*, que conferem às cervejas um carácter de aroma e *flavour* peculiar e complexo, originando exemplos de cervejas como as belgas *Lambic* e *Belgian Geuze* (George, 2015).

A seleção da levedura ou mistura de leveduras a usar no processo produtivo depende do espectro de aromas e *flavours* que se pretende desenvolver no produto final (Briggs et al., 2004). Para além da questão do aroma e *flavour*, outros atributos da cerveja são influenciados pelas leveduras como por exemplo o corpo, a complexidade e a doçura residual. Relativamente ao teor de açúcares residuais, não fermentados pela levedura, estes permitem a classificação da cerveja como doce ou seca e influenciam a perceção geral da cerveja, quer em termos de corpo e textura, como de sabor, afetando a perceção do amargor proveniente do lúpulo (Dredge, 2014).

(e) Outros – para além dos ingredientes essenciais, os cervejeiros podem, ainda, adicionar no processo produtivo outros produtos edíveis como frutos, chocolate, café e especiarias que passam para a cerveja algumas das suas características aromáticas, de forma mais ou menos subtil (Dredge, 2014). Nesta categoria, podem também ser incluídas matérias-primas usadas como adjuntos do processo de fermentação como são exemplo o mel, açúcar, xaropes de glicose e de milho, entre outros (George, 2015).

A combinação destes ingredientes, nas suas diversas variedades, sob condições específicas durante o processo produtivo de cerveja traduz-se na produção de uma bebida com características únicas, definindo o seu estilo e o seu *flavour* (Dredge, 2014).

Em termos de classificação, como já referido, as cervejas subdividem-se geralmente em 2 ou 3 categorias com base no tipo de fermentação – *ales*, *lagers* e ainda, de *fermentação espontânea*. Acresce a esta divisão, a existência de inúmeros estilos de cerveja disponíveis para cada categoria. Em cada estilo descreve-se quais as características que a cerveja deve ter em termos de cor, aroma, sabor, textura (corpo), intensidade de álcool, que tipo de matérias-primas foram usadas no seu fabrico, sendo todas estas extremamente variáveis para diferentes estilos, e conjugando, ainda, uma importante componente histórica e cultural associada ao estilo em questão (Oliver, 2010).

2.1.2 Cerveja Artesanal

Não é fácil definir concretamente o conceito de cerveja artesanal, sendo que este pode ser subjetivo ("What is Craft Beer?"), contudo, a organização americana Brewers Association define os cervejeiros artesanais como pequenos, independentes e tradicionais.

No final da década de 70, no Reino Unido e EUA, com o aparecimento de inúmeras microcervejeiras, iniciou-se um movimento cultural de cerveja artesanal que se difundiu pelo resto do mundo nas décadas seguintes do século XX e no início do século XXI (Oliver & Colicchio, 2011). Este movimento da cerveja artesanal surgiu como resposta ao mercado dominado pelas grandes cervejeiras, produtoras sobretudo de cervejas do tipo corrente, da categoria *lager*. Nesse sentido, as microcervejeiras propuseram-se desenvolver cervejas alternativas com a maior qualidade possível (Dredge, 2014). Em Portugal, introdução da cerveja artesanal foi mais tardia, tendo surgido apenas em 2011 a primeira cerveja artesanal portuguesa. A partir de 2011, verificou-se um crescimento significativo da cerveja artesanal em Portugal, aumentando, nos 3 anos seguintes, para um total de 30 microcervejeiras produtoras de cerveja artesanal (Berkhout et al., 2013; Europe, 2016). Porém, é provável que atualmente o número de indústrias de cerveja artesanal nacionais seja já bastante superior a 30 ("Key Facts and Figures 2015 - Portugal").

Atualmente, a nível nacional, apesar de se verificar uma tendência geral de diminuição do consumo de cerveja, observa-se, em sentido oposto, um crescimento do segmento da cerveja artesanal e das cervejas especiais (Berkhout et al., 2013). O crescimento associado à cerveja artesanal é comum a outras regiões do mundo. Nos EUA esse crescimento parece estar associado aos *millenials*. Estes são

um grupo populacional específico que compreende jovensjovens, com idades entre os 21 e 30 anos, que demonstram uma maior predisposição para experimentar novos sabores de cerveja, mesmo que tenham que pagar preços superiores (Aquilani, Laureti, Poconi, & Secondi, 2015; Ascher, 2012).

A perceção de qualidade pelos consumidores relativamente à cerveja artesanal é superior à da cerveja regular (Aquilani et al., 2015), sendo que, o segmento das cervejas artesanais se destaca pela diferenciação dos seus produtos e serviços (Murray & O'Neill, 2012). A este nível, os cervejeiros artesanais tendem a produzir cervejas com mais aroma e sabor que as regulares, apostando também na inovação com produção, desenvolvimento e reinvenção de cervejas, de variados estilos com diferenças ao nível dos atributos sensoriais, particularmente no que respeita ao *flavour* (Oliver & Colicchio, 2011).

2.2 Flavour

A sensação resultante da integração dos vários estímulos incitados por alimentos e bebidas aquando da sua ingestão designa-se por *flavour*, sendo este um dos atributos sensoriais determinantes na seleção, aceitação e ingestão dos alimentos pelos consumidores (Ahn, Ahnert, Bagrow, & Barabási, 2011; Clark, 2008).

O *flavour* pode ser considerado sob uma perspetiva multissensorial, visto que resulta da estimulação combinada de vários sentidos, devido à ação e interação de um vasto número de moléculas, voláteis e não voláteis a 3 níveis: ao nível dos recetores das papilas gustativas (sabor), dos recetores de olfato (aroma) e das fibras do nervo trigeminal (*mouthfee*) (Ahn et al., 2011; Auvray & Spence, 2008; Bufe & Meyerhof, 2006; Dredge, 2014; Fisher & Scott, 1997; Foodpairing®; Laing & Jinks, 1996; Prescott, 2015; Taylor & Linforth, 2009).

2.2.1 Sabor e Textura (*Mouthfee*)

A sensação de sabor é veiculada por compostos que são, geralmente, à temperatura ambiente, não voláteis e que se ligam a recetores localizados nas papilas gustativas (Bufe & Meyerhof, 2006; Fisher & Scott, 1997). Existem entre 2000 a 5000 papilas gustativas na cavidade oral distribuídas pela língua, palato e, em menor extensão, pela epiglote, faringe e laringe. As diferentes papilas gustativas são enervadas por ramificações de diferentes nervos e respondem a todos os sabores básicos, apesar de apresentarem sensibilidade variável a diferentes sabores (Roper, 2013).

É possível enumerar 5 sabores básicos: doce, salgado, ácido, amargo e umami (Bufe & Meyerhof, 2006; Fisher & Scott, 1997; Keast & Costanzo, 2015). Todos estes sabores são desencadeados pela ligação de diferentes compostos aos recetores das papilas gustativas, nomeadamente: açúcares e hidratos de carbono (HC) para o sabor doce, iões de hidrogénio (H^+) para o sabor ácido, sódio (Na^+) para o sabor salgado, outros iões minerais para o sabor amargo e aminoácidos, particularmente o glutamato, para o umami (Bufe & Meyerhof, 2006; Keast & Costanzo, 2015).

Para além destes, atualmente questiona-se se a gordura pode também ser detetada por recetores do paladar na cavidade oral, desencadeando uma sensação própria. Esta circunstância relaciona-se com o facto dos restantes macronutrientes (HC e proteínas) terem representatividade na gama dos sabores básicos, sendo legítimo assumir que os ácidos gordos, componentes estruturais da gordura, poderão ter também um papel na sensação de gosto. Atualmente, apesar de já existir alguma evidência científica acerca da existência de recetores de gosto específicos para os ácidos gordos, esta evidência ainda não é suficientemente robusta para considerar a gordura como o sexto sabor primário (Keast & Costanzo, 2015).

Relativamente à perceção de textura ao nível da boca – *mouthfeel* –, a mesma pode dividir-se em 3 componentes: pressão, sensações trigeminais e cinestesia, sendo que a pressão representa a sensação decorrente da força aplicada sobre a superfície dos alimentos, as sensações trigeminais correspondem a sensações de dor/irritação e as sensações cinestésicas são consequentes da atividade dos músculos durante a mastigação (Fisher & Scott, 1997).

No que concerne ao conceito de *flavour*, relativamente às componentes do *mouthfeel*, importam sobretudo as sensações desencadeadas pela estimulação das fibras do nervo trigeminal. Associados a estas sensações trigeminais, estão os descritores de irritação, adstringência, pungência e, também, descritores térmicos (i.e. calor, frescura). Vários compostos têm capacidade de provocar estas sensações, sendo um exemplo concreto, a capsaicina, composto presente na pimenta e no piri-piri, que é capaz de estimular fibras do nervo trigeminal. Neste caso, são as sensações trigeminais as responsáveis pela sensação picante associada à ingestão destas especiarias (Bufe & Meyerhof, 2006; Fisher & Scott, 1997).

Estima-se que os sabores básicos e o *mouthfeel*, em conjunto, contribuam apenas em cerca de 20% para a perceção de *flavour* de um alimento ou bebida, sendo os restantes 80% da responsabilidade do sentido do olfato (Auvray & Spence, 2008; Foodpairing®).

2.2.2 Aroma

A sensação de aroma, por sua vez, é bastante mais complexa do que de sabor, estimando-se que o ser humano consiga distinguir até 10 000 odores distintos (Fisher & Scott, 1997; Foodpairing®; Mosher, 2009).

O odor pode ser desencadeado pela estimulação do epitélio nasal por duas vias: orthonasal e retronasal. A via orthonasal consiste na entrada de moléculas de odor pelas narinas, através da inspiração, originando uma sensação mais intensa. A via retronasal decorre durante a ingestão de alimentos, quando se verifica a volatilização dos aromas na boca, criando-se um gradiente responsável pela sua transferência até aos recetores olfatórios do epitélio, o que desencadeia uma sensação de aroma (Noble, 1996).

Para que um aroma seja percebido é necessária a presença de moléculas aromáticas voláteis, em concentrações suficientemente altas (acima do limiar de deteção sensorial) para desencadear uma sensação após atingir o epitélio nasal. Geralmente as moléculas de odor são compostos orgânicos parcialmente lipossolúveis, de baixo peso molecular e muitas delas foram já identificadas com recurso a técnicas de cromatografia gasosa (GC) (Fisher & Scott, 1997).

O odor característico percebido de um alimento é resultado da combinação das várias moléculas voláteis constituintes que se ligam e ativam os respetivos recetores do epitélio nasal. Os axónios das células do epitélio enviam o sinal nervoso, decorrente da ativação das células nervosas do epitélio, ao bulbo olfativo que integra e modula a informação e a remete para o córtex olfativo, de onde é enviada para o restante sistema nervoso (Fisher & Scott, 1997; Holley, 2006; Laing & Jinks, 1996). No bulbo olfativo, os potenciais de ação, originados pelos recetores em resposta a um determinado odor, convergem num número limitado de células, ativando-as. O padrão de células ativadas é característico de cada odor, sendo que diferentes compostos aromáticos originam diferentes padrões e o número de células ativadas é dependente da concentração dos compostos no alimento, sendo mais células ativadas quanto maior for a concentração do composto no alimento (Holley, 2006; Laing & Jinks, 1996).

Contudo, a relação entre a concentração e a sensação resultante não é exatamente linear, sendo complexo estabelecer a contribuição de cada composto para o *flavour* do alimento. Por um lado, coloca-se a questão do limiar de deteção, ou seja, existem alguns compostos voláteis que mesmo em concentrações muito baixas conseguem desencadear uma sensação aromática intensa, porque os seus limiares de deteção são baixos e, pelo contrário, outros compostos que mesmo presentes em quantidades consideráveis têm pouco impacto na sensação de odor, por terem limiares de deteção mais elevados (Fisher & Scott, 1997). Por outro lado, existe também a questão das interações entre

compostos, verificando-se que, numa mistura de compostos, estes podem interagir alterando o efeito dos compostos individuais (Laing & Jinks, 1996).

2.3 *Flavour da Cerveja*

Em termos de atributos sensoriais, muitas cervejas caracterizam-se pela sua complexidade, apresentando *flavours* multidimensionais resultantes do contributo das matérias-primas e do processamento, nomeadamente do lúpulo, malte, fermentação, maturação e envelhecimento (Saunders, 2007).

Diferenças nos atributos sensoriais são comuns entre cervejas, particularmente entre *ales* e *lagers*. A composição das *ales* e *lagers* em compostos *flavour* é semelhante, apesar de diferirem em relação a algumas classes de compostos (Pickett, Coates, Peppard, & Sharpe, 1976). Verifica-se que os compostos maioritários de *flavour* na cerveja são o etanol, os alfa-ácidos derivados do lúpulo e o CO₂ (Alvim, Borges, Machado, Gomes, & Badotti, 2014; Olaniran, Hiralal, Mokoena, & Pillay, 2017), sendo estes comuns a todas as cervejas e, por isso, independentes do estilo, pelo que não são específicos e não contribuem para a diferenciação das cervejas em estilos. Pelo contrário, muitos dos compostos minoritários ocorrem especificamente em cervejas distintas, contribuindo, por sua vez para os aromas, sabores e *mouthfeel* característicos de diferentes estilos de cervejas (Alvim et al., 2014).

2.3.1 Compostos de aroma/*flavour* na cerveja

Os compostos responsáveis pelo aroma e *flavour* na cerveja podem ser derivados das matérias-primas como a cevada e o lúpulo, podem constituir subprodutos do processo de fermentação, em resultado do metabolismo da levedura, podem resultar da atividade de outros microrganismos contaminantes e, por fim, podem resultar das alterações decorrentes do armazenamento (Olaniran et al., 2017). Estes compostos tipicamente presentes em cervejas podem pertencer a várias classes químicas, incluindo álcoois superiores, ésteres, aldeídos, cetonas, ácidos gordos, terpenos, compostos de enxofre, lactonas, furanos, entre outras (Meilgaard, 1982; Olaniran et al., 2017).

Os álcoois superiores da cerveja são formados durante o metabolismo das leveduras como subproduto da síntese de aminoácidos a partir do piruvato e, também, através do catabolismo de aminoácidos e encontram-se envolvidos em processos de síntese de ésteres. Os álcoois podem ter um impacto positivo ou negativo no aroma e *flavour* da cerveja, dependendo da sua concentração. Verifica-se que em grandes concentrações, normalmente, conferem odores e *flavours* fortes e pungentes,

enquanto níveis inferiores conferem características agradáveis ao produto (Olaniran et al., 2017). Apesar disso, genericamente, os limiares de detecção dos álcoois são superiores aos de outras classes de compostos, o que faz com que esta classe de voláteis tenha um impacto menor no perfil aromático dos alimentos (Fisher & Scott, 1997).

Os ésteres são uma das classes de compostos voláteis da cerveja mais importantes do *flavour* e aroma. O impacto destes voláteis é elevado uma vez que diferentes ésteres podem apresentar efeitos aditivos no *flavour*, sendo capazes de afetar o *flavour* mesmo quando presentes individualmente abaixo do limiar de detecção. A produção de ésteres é devida ao metabolismo das leveduras e relaciona-se com o seu crescimento e metabolismo lipídico e a sua presença na cerveja confere-lhe aromas e *flavours* florais, frutados e a mel (Olaniran et al., 2017).

Em bebidas fermentadas surgem dois tipos principais de ésteres, ésteres de acetato e ésteres etílicos. Nos ésteres de acetato o grupo ácido é o acetato e o grupo alcoólico pode ser o etanol ou outros álcoois complexos derivados do metabolismo de aminoácidos, por exemplo o acetato de etilo que representa cerca de 1/3 de todos os ésteres, o acetato de isoamilol que apresenta um aroma a banana; e o acetato de fenetilo que tem um aroma a rosas e a mel. Os ésteres etílicos, por sua vez, são compostos por etanol como grupo álcool e, por um ácido gordo de cadeia média como grupo ácido. Adicionalmente, o hexanoato de etilo com aroma a maçã, o octanoato de etilo que apresenta aroma a maçã ácida/azedada e o decanoato de etilo são também exemplos desses ésteres (Olaniran et al., 2017).

Os aldeídos, na cerveja, são formados (i) durante o processamento do mosto (brassagem e fervura) por reações de Maillard e de oxidação lipídica e (ii) como subprodutos das vias anabólicas e catabólicas de formação de álcoois superiores durante a fermentação (Olaniran et al., 2017). São responsáveis por aromas herbáceos, bem como por uma série de aromas frutados tais como o benzaldeído cujo aroma é descrito frequentemente como reminiscente de amêndoa ou associado a cereja, ou o (Z)-6-nonenal composto característico do aroma a melão, ou alguns aldeídos alifáticos como o decanal, responsável por carácter aromático cítrico. Além destes aromas alguns aldeídos são responsáveis por conferir aromas característicos de oxidação e “adocicados”, como é o caso do acetaldeído (Fisher & Scott, 1997).

Muitas cetonas apresentam limiares de detecção elevados, o que diminui a sua relevância para o perfil de *flavour* dos alimentos. Ainda assim, algumas cetonas apresentam limiares de detecção mais baixos e contribuem significativamente para o *flavour* (Fisher & Scott, 1997). O diacetil (2,3-butanediona) é uma dicetona vicinal bastante relevante na cerveja, cuja presença pode ser ou não desejada, consoante o estilo (Papazian, 2006). Este composto apresenta um limiar de detecção de 0,1 – 0,15 ppm, e um

intenso aroma a caramelo amanteigado. Em muitos estilos de cerveja é importante que a concentração de diacetil presente seja inferior ao limiar, para que seja impercetível. Este composto é produzido pela levedura, como subproduto da fermentação e, a sua eliminação ocorre no final da fermentação primária e durante a maturação através da reabsorção do diacetil pela levedura e posterior redução em acetoína e 2,3-butanediol, compostos com limiares de deteção mais elevados e sem relevância para o *flavour* (Olaniran et al., 2017).

As lactonas são compostos que apresentam baixo limiar de deteção e, por conseguinte, têm um impacto considerável no *flavour* dos alimentos que constituem. À cerveja, são associadas várias γ -butirolactonas que lhe conferem aromas a assado/torrado doce (Fisher & Scott, 1997).

Vários ácidos também foram reportados como constituintes da fração volátil da cerveja como são exemplos os ácidos metanóico, hexanóico, heptanóico, octanóico, entre outros (Pinho, Ferreira, & Santos, 2006). Os ácidos, para além do carácter de sabor que lhes é inerente, também influenciam o aroma e *flavour* dos alimentos. Em termos de aroma, entre os descritores que são associados a diferentes ácidos, existem referências a aromas amanteigados e a frutos silvestres (Fisher & Scott, 1997).

Os furanos, entre os quais furfurais e furanonas, decorrem nos alimentos na sequência de reações de Maillard sofridas por hidratos de carbono. Assim, quando presentes na cerveja, são provavelmente provenientes do malte. Conferem, tipicamente, aromas a caramelo, doces, e frutados (Fisher & Scott, 1997).

Os terpenos são compostos derivados do ácido mevalónico que lhes fornece as unidades básicas – o isopreno. Existem várias classes de terpenos, dependendo do número de unidades isoprénicas constituintes, entre as quais hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos, constituídas, respetivamente, por uma, duas, três e quatro unidades de isopreno. Estes hidrocarbonetos são encontrados nos óleos essenciais de muitas plantas mas, por si só, têm pouco impacto no *flavour*. Por outro lado, quando oxigenados, os terpenos apresentam limiares de deteção mais baixos, aumentando a sua relevância em termos de transmissão de carácter aromático. Na forma hidrocarbonetos, os terpenos atuam sobretudo como solvente para os terpenos oxigenados, aumentando a capacidade destes compostos mais potentes atingirem os recetores de odor. Das várias classes de terpenos, são os monoterpenos que se destacam pela sua abundância nos alimentos, oferecendo a muitas ervas, especiarias e frutos cítricos o seu carácter aromático. Os sesquiterpenos, porém, apesar de menos comuns que os monoterpenos nos óleos essenciais de produtos vegetais, podem ser muito relevantes para o seu *flavour*, muitos destes compostos foram já identificados como compostos essenciais no carácter aromático específico de vários produtos (Fisher & Scott, 1997). No caso da cerveja, identificam-

se os epóxidos de humuleno como compostos de carácter lupulado (Fisher & Scott, 1997). Além destes, outros terpenos como o α -pineno, β -pineno, mirceno, limoneno, β -cariofileno e o linalol, já identificados em diversas variedades de lúpulo, conferem à cerveja diferentes características aromáticas (Aberl & Coelhan, 2012).

Os compostos de enxofre têm, para a generalidade dos alimentos, um impacto significativo no aroma e *flavour* uma vez que, devido ao facto de terem capacidade de se ligar fortemente aos recetores olfativos, apresentam limiares de deteção bastante baixos. De forma geral, os tióis apresentam limiares de deteção dramaticamente inferiores aos álcoois análogos (Fisher & Scott, 1997). Alguns compostos de enxofre são formados durante o processo de maltagem da cevada ou são constituintes do lúpulo e, por isso, são transmitidos para o mosto cervejeiro durante o processo produtivo (Hughes, 2009; Lermusieau & Collin, 2003). Contudo, nas várias etapas de produção de cerveja, muitos destes compostos perdem-se por evaporação ou degradação química durante a fervura, ou durante a fermentação por ação das leveduras. Um dos que resiste ao processo e que pode ocorrer em cervejas, particularmente em *lagers* é o dimetilssulfureto (DMS) (Hughes, 2009).

Foram já identificados mais de 800 compostos de *flavour* na cerveja, apesar de apenas uma fração destes ser relevante para o *flavour*. A identificação dos compostos ativos e relevantes para o *flavour* é importante para propósitos de diferenciação entre cervejas e deve ter em consideração a quantidade do composto presente na cerveja e o seu limiar de deteção (Meilgaard, 1982; Olaniran et al., 2017).

Morten C. Meilgaard (Meilgaard, 1982) definiu uma forma de classificar os *flavours* da cerveja baseada na relação entre estas duas variáveis – concentração e limiar de deteção – que consiste em atribuir unidades de *flavour* (FU) para cada composto presente, sendo que $FU = \text{Concentração} / \text{Limiar de deteção}$. Através desta classificação o autor definiu os constituintes de *flavour* como sendo primários cujo FU é igual ou superior a 2 e entre os quais se incluem, na generalidade das cervejas, o etanol, os alfa-ácidos derivados do lúpulo e o CO_2 ; secundários com valores de FU entre os 0,5 e os 2 e que, coletivamente contribuem em maior extensão para o *flavour*; terciários que conferem em conjunto notas secundárias, não sendo percecionados individualmente e cujo FU varia entre os 0,1 e 0,5; e, por fim constituintes de *background* que apresentam FU inferior a 0,1, que excedem os 750 compostos, e contribuem, em conjunto, para menos de 30% do *flavour*. No mesmo trabalho, o autor avaliou a interação entre compostos na cerveja concluindo que, (i) compostos com *flavours* semelhantes são parcialmente aditivos, ou seja a intensidade da sensação desencadeada pelo *flavour* combinado é idêntica à soma das

intensidades individuais e que (ii) não existem exemplos óbvios, na cerveja, de sinergismo ou antagonismo entre compostos de *flavour* (Meilgaard, 1982).

Apesar de muitos estudos se focarem na identificação de compostos voláteis da cerveja, uma informação precisa acerca do perfil aromático de compostos voláteis específico para os vários estilos de cerveja é ainda escassa.

2.3.2 Mapa de *Flavour* da Cerveja – “*Beer Flavour Map*”

No sentido de facilitar a classificação de diferentes cervejas com base nas características de *flavour* foram já desenvolvidas algumas ferramentas que visam uniformizar os descritores usados para a avaliação sensorial. Na década de 1970, investigadores da *American Society of Brewing Chemists* e da *European Brewing Convention* desenvolveram o primeiro sistema de vocabulário para identificar, definir e comunicar os atributos da cerveja designado por “Roda de *flavour* da cerveja” (“*Beer Flavour Wheel*”), sendo este o primeiro grande avanço de padronização da terminologia associada à cerveja. Mais recentemente, numa tentativa de atualizar este sistema de forma a espelhar o conhecimento científico atual e a facilitar o uso, foi concebido o “Mapa de *flavour* da cerveja” (*Beer Flavour Map*) (Galanty, 2016; Garneau & Barr, 2016).

A equipa responsável pelo desenvolvimento do mapa, construiu, inicialmente, uma base de dados de *flavour* com informação química e respetivos descritores sensoriais e, *a posteriori*, elaborou o mapa, optando por apresentar os descritores comuns para que pudesse ser útil a uma gama mais alargada de utilizadores. Desta forma, esta ferramenta permite aumentar o uso de vocabulário comum específico para o *flavour* da cerveja, constituindo uma ponte entre os dados analíticos dos compostos químicos constituintes e os descritores comuns (Galanty, 2016).

O *design* e a organização do mapa permite transmitir a informação de forma clara e acessível dividindo o *flavour* nas suas 3 componentes: sabor, aroma e *mouthfeel*, sendo que cada uma destas é dividida em subcategorias descritas de forma concisa. Os descritores selecionados e que constam no mapa foram categorizados escrupulosamente refletindo da melhor forma possível o conhecimento científico (químico e taxonómico) de forma a definir de forma objetiva e precisa os clusters (Galanty, 2016).

Em relação à roda de *flavour*, o mapa apresenta melhorias na forma de apresentação e organização que promove uma maior simplicidade de utilização, facilitando a complexa tarefa de descrever os atributos de aroma, sabor e *mouthfeel* da cerveja, podendo ser útil para a indústria e

profissionais cervejeiros e também para consumidores e entusiastas da bebida (Galanty, 2016; Garneau & Barr, 2016).

2.3.3 Classificação de estilos de cervejas com base nas características de *flavour*

A classificação de cervejas não é um processo *standard*, verificando-se inúmeras formas distintas de o fazer, incluindo a classificação dos diferentes estilos em função da cor ou do local de origem da cerveja. Contudo estes tipos de classificação são pouco informativos no que diz respeito às características de *flavour* associadas a cada estilo. Nesse sentido, neste trabalho, considera-se pertinente a proposta do autor Roger Barth, no seu livro “*The Chemistry of Beer - The Science in the Suds*” que sugere um esquema de classificação dos diversos que permita agrupá-los de acordo com as características major de *flavour* (Barth, 2013).

Em primeira instância o autor categoriza os estilos de acordo com a tipologia de fermentação: *ale* e *lager*. Em seguida, considera ainda uma terceira categoria de estilos, que compreendem *ales* e *lagers* com características especiais e, por fim, considera a divisão de cada uma das categorias de estilos em subcategorias que representem determinadas características de *flavour*. A esquematização da classificação referida apresenta-se na figura 1.

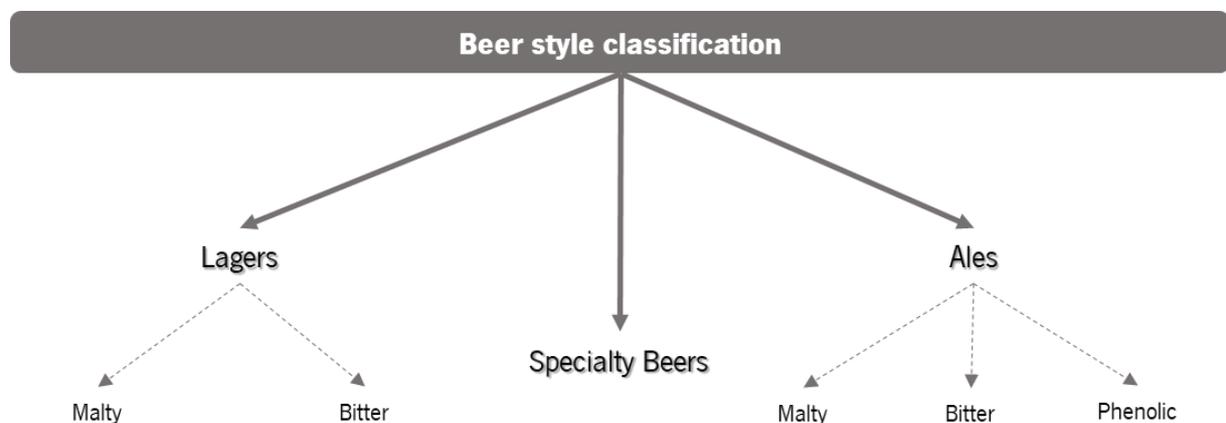


Figura 1 – Classificação de categorias de estilos consoante as respetivas características de *flavour*. Adaptado a partir de *The Chemistry of Beer - The Science in the Suds* (Barth, 2013).

De acordo com o autor, tanto os estilos de *ales* como de *lagers* podem ser classificados como “*malty*” ou “*bitter*” consoante as cervejas apresentem características sobretudo derivadas dos maltes usados, como aromas caramelizados ou tostados (“*malty*”) ou apresentem amargor derivado do lúpulo (“*bitter*”). Para além desta distinção, no caso dos estilos da categoria *ale*, existe ainda a subcategoria

“phenolic”, que categoriza sobretudo as cervejas de trigo e algumas *ale* belgas, por apresentarem frequentemente aromas fenólicos, como a “cravo”, derivados sobretudo do composto 4-vinilguaiacol (Barth, 2013).

2.4 Harmonização Cervejas & Alimentos, teoria de *food pairing*

Tradicionalmente, a cerveja não era considerada a bebida mais associada a harmonizações com pratos gastronómicos, cabendo esse papel sobretudo ao vinho, ficando o consumo de cerveja associado sobretudo a ocasiões informais (Pettigrew & Charters, 2006). Contudo, verifica-se um interesse crescente em usar a cerveja em harmonizações gastronómicas, sobretudo pelo aparecimento de cervejas especiais, com uma maior gama de variedades, que exponencia o consumo de cerveja em situações mais formais (Harrington, Miszczak, & Ottenbacher, 2008; Pettigrew & Charters, 2006). De facto, a multiplicidade de aromas, sabores e *flavours* da gama de cervejas artesanais disponíveis, de diferentes estilos, justifica a versatilidade do consumo e harmonizações de cerveja com alimentos (Donadini, Spigno, Fumi, & Pastori, 2008; Oliver & Colicchio, 2011).

Atualmente, a informação disponível acerca de harmonizações gastronómicas de cervejas com alimentos como queijos, chocolates e diversos pratos culinários é abundante em livros, *blogs*, revistas cervejeiras e *websites*, refletindo as opiniões pessoais de *sommeliers*, *chefs*, mestres cervejeiros, entusiastas da cerveja, jornalistas e autores (Donadini, Fumi, & Lambri, 2013; Donadini et al., 2008; Harrington et al., 2008). Assim, a informação disponível é, muitas vezes, subjetiva e existem ainda poucos estudos de investigação científica que explorem as harmonizações de cervejas e alimentos.

A maioria dos estudos de investigação científica realizados no âmbito da temática de combinar alimentos e bebidas focam-se nas harmonizações gastronómicas com vinho (Donadini et al., 2013). A cerveja e o vinho partilham, contudo, vários atributos sensoriais, pelo que se considera aceitável que os métodos e princípios usados como guia de harmonização possam ser análogos para ambas as bebidas (Donadini et al., 2008).

2.4.1 Abordagens à harmonização de alimentos e bebidas

Para harmonizar alimentos e pratos culinários com bebidas podem ser consideradas diferentes abordagens:

- (a) Local – Neste caso a gastronomia deve complementar a bebida no sentido de serem ambas típicas de uma determinada região, ou seja, os pratos locais são o par perfeito para bebidas

também tipicamente locais. Este tipo de conceito de harmonização visa respeitar a identidade gastronómica de determinada região (Donadini et al., 2008).

- (b) Sazonal – Harmonizações variam consoante a estação. No tempo quente a acompanhar geralmente pratos leves, frescas e saladas estão bebidas leves, pelo contrário, durante as estações frias são comuns os pratos mais substanciais, calóricos e estruturados, que acompanham idealmente bebidas com maior corpo e maturação (Donadini et al., 2008).
- (c) Valorização – Neste tipo de abordagem o objetivo é salientar o perfil de *flavour* de um dos elementos da harmonização: ou da bebida ou da refeição. Um exemplo é servir uma refeição simples a acompanhar uma bebida *premium / vintage* para que a bebida não seja diminuída pelo prato (Donadini et al., 2008).
- (d) Equilíbrio – Baseia-se no conceito que alimentos e bebidas devam ser combinados de acordo com as sensações de aroma e sabor complementares e contrastantes de forma a criar um equilíbrio ou harmonia entre os dois elementos (Donadini et al., 2008; Harrington, 2005). As referências a esta perspetiva de harmonização focam-se no vinho e visam definir um método mais objetivo e coerente para estabelecer pares ideais de vinhos e alimentos.

Considerando a perspetiva de equilíbrio, assume-se que o desenvolvimento de um método de harmonização entre bebidas e alimentos implica avaliar previamente as particularidades de cada um dos elementos a emparelhar, já que algumas das suas características organoléticas podem influenciar significativamente a harmonização, quer em termos de contraste quer de similaridade (Harrington, 2005).

2.4.2 Perspetiva de equilíbrio na harmonização de alimentos e bebidas

Tendo em conta as características aromáticas e de *flavour* na definição de harmonizações é relevante considerar que a combinação dos dois elementos distintos pode transformar os atributos percebidos individualmente pelos consumidores. Esta transformação, por sua vez, pode ter um impacto positivo, negativo ou neutro, sendo o objetivo da harmonização conseguir um impacto organolético positivo, refletindo-se por melhores respostas hedónicas por parte dos consumidores (Harrington, 2005). São vários os fatores que têm uma influência significativa, embora variável, na resposta hedónica dos consumidores ao par, nomeadamente o tipo de alimento, o tipo de bebida, o domínio do *flavour* por um dos elementos do par relativamente ao outro e a preferência individual (Donadini et al., 2013).

De facto, a preferência individual é um fator decisivo no sucesso de uma harmonização, existindo evidência de que a preferência pela bebida é mais relevante do que a preferência pelo alimento para o

sucesso da harmonização (Donadini et al., 2013; Harrington, 2005; Harrington et al., 2008). É fundamental que no desenho de um método de definição de harmonizações, este seja capaz de responder a necessidades comuns do dia-a-dia, oferecendo uma gama de recomendações e/ou *guidelines* com alguma amplitude, de forma a ser possível dar resposta a diferentes gostos individuais (Donadini et al., 2008; Harrington, 2005).

Considerando a perspetiva de harmonização entre alimentos e bebidas com base no equilíbrio de sabores e aromas podem considerar-se os princípios de complementaridade, contraste e intensidade.

Tendo em conta o conceito de intensidade, quando aplicado ao vinho, é aceite que vinhos leves sejam mais indicados para acompanhar refeições leves e vinhos mais robustos acompanhem melhor, por sua vez, refeições mais robustas (Harrington, 2005). O mesmo critério pode ser aplicado à cerveja, existindo diversas referências que apontam nesse sentido, sendo que a intensidade, na cerveja, reflete a conjugação de vários atributos, entre os quais o grau alcoólico, o corpo e a carbonatação (Donadini et al., 2008; Harrington et al., 2008; Mosher, 2009).

A complementaridade e o contraste são princípios aplicados a diferentes características organoléticas específicas. A complementaridade corresponde à similaridade do perfil aromático dos dois componentes do par, ou seja à harmonia entre os aromas dos dois elementos. Já o contraste é conseguido pelas diferenças entre texturas e sabores nos dois componentes a harmonizar (Harrington, 2007; Lahousse, 2016; Schultz, 2012).

Estes princípios, particularmente a complementaridade e o contraste, são a base de um método científico desenvolvido e otimizado por uma equipa de investigadores belgas, liderada por Bernard Lahousse, o foodpairing® (Foodpairing®; Lahousse, 2016).

2.4.3 Harmonização entre alimentos – foodpairing®

O foodpairing® é um método científico que visa encontrar as melhores harmonizações entre alimentos, baseando-se nas suas características particulares de *flavour*. De acordo com os investigadores que o desenvolveram e otimizaram, a experiência sensorial do consumo de alimentos, traduzida na sensação de *flavour*, é maioritariamente devida às características de aroma, sendo o sentido do olfato responsável por cerca de 80% da sensação de *flavour* percebida durante a ingestão. Os restantes 20% são, por conseguinte, da responsabilidade dos sentidos do gosto e da textura (Foodpairing®).

Assim, no método em questão, a análise do perfil aromático dos alimentos, nomeadamente através da análise aos compostos voláteis constituintes, por técnicas de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) é o ponto de partida para a investigação sistemática dos princípios

subjacentes à escolha de harmonizações (Ahn et al., 2011; Foodpairing®). Após a identificação, num determinado alimento, dos compostos voláteis constituintes, é avaliada a contribuição efetiva destes compostos para os aromas característicos do alimento e definido o seu perfil aromático específico (Foodpairing®).

Depois de definido o perfil do alimento ou bebida a combinar, através de algoritmos e técnicas de computação estabelecem-se as melhores harmonizações, sendo que, de forma geral, os alimentos combinam melhor entre si se partilharem aromas-chave (Foodpairing®). Ou seja, de acordo com a hipótese levantada por Bernard Lahousse e a sua equipa de investigação, quanto maior for a similaridade no perfil de compostos voláteis, maior será a probabilidade de, quando combinados, os alimentos resultarem numa boa harmonização (Ahn et al., 2011; Foodpairing®; Kort, Nijssen, van Ingen-Visscher, & Donders, 2010).

Alguns trabalhos publicados e teses académicas que propuseram avaliar e validar esta teoria (Ahn et al., 2011; Campinho, 2014; Carvalho, 2015; Kort et al., 2010), têm apresentando resultados dispares, demonstrando assim a complexidade associada ao estudo do *flavour* e da temática da harmonização sensorial.

3. METODOLOGIA

3.1 Cervejas

As seis cervejas *Sovina* usadas neste trabalho podem ser classificadas de acordo com os respetivos estilos seguindo a terminologia descrita no ponto 2.3.3:

- (i) *Trigo* – Weissbier;
- (ii) *Stout* – Dry Stout;
- (iii) *IPA* – India Pale Ale;
- (iv) *Amber* – Bière de Garde;
- (v) *Bock* – Helles Bock;
- (vi) *Helles* – Munich Helles.

A associação destas cervejas às famílias e subfamílias do sistema de classificação considerado baseou-se nas características de estilo preconizadas pelas *guidelines* da Brewer's Association (Charlie Papazian, Paul Gatz, Chuck Skyepeck, & Swersey, 2018) e apresenta-se, em seguida, na figura 2.

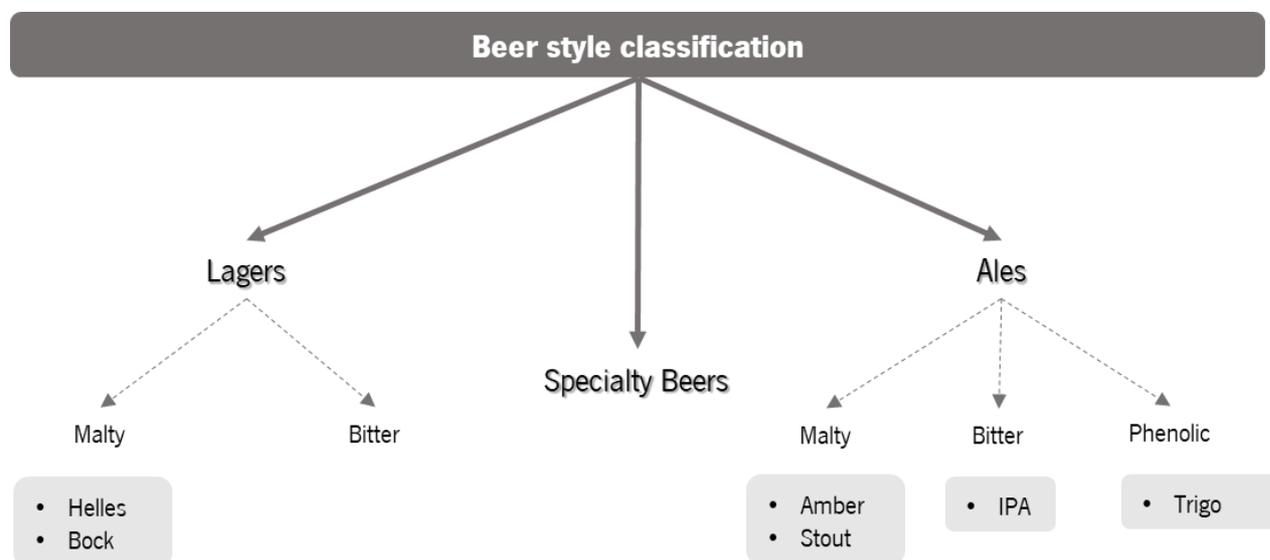


Figura 2 – Classificação de famílias de estilos consoante as respetivas características de flavour e associação das cervejas em estudo a categorias dependendo das características associadas aos estilos correspondentes.

3.2 Análise de compostos voláteis e definição do perfil aromático de cervejas artesanais

3.2.1 Determinação dos compostos voláteis nas cervejas *Sovina*

No sentido de obter informação específica acerca do perfil de compostos voláteis de cada uma das seis cervejas da marca *Sovina* foi efetuada uma análise por cromatografia gasosa no Laboratório de Bromatologia e Hidrologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

A análise seguiu as orientações de um protocolo otimizado por Hao et al., publicado pela *American Society of Brewing Chemists* (Hao et al., 2014), tendo sido realizada em triplicado.

Assim, a determinação analítica dos compostos foi precedida pela extração da fração volátil das amostras por microextração em fase sólida (SPME) com fibra de divinilbenzeno-carboxen-polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) de 100 μm . O procedimento de extração iniciou-se por uma pré-incubação da amostra a 50 °C durante 5 minutos a uma velocidade de agitação de 300 rpm. Em seguida, a fibra foi inserida e exposta à amostra durante 60 minutos a 50 °C, com agitação contínua a 250 rpm. Depois da extração procedeu-se à dessorção da fibra por um injetor *split-splitless* durante 2 minutos a 250 °C, seguindo-se a análise por GC-MS. A separação cromatográfica foi efetuada numa coluna capilar DB-WAXetr (60 m, 0,32 mm, 0,25 μm) usando o hélio como gás de arraste com uma taxa de fluxo de 1,5 ml/min. A sequência de temperaturas da coluna iniciou-se, após a injeção, com 37 °C durante 10 minutos aumentando até 120 °C à taxa de 8 °C/min, depois até 150 °C à taxa de 1 °C/min, até 195 °C à taxa de 5 °C/min e, por fim, um aumento até 250 °C à taxa máxima, mantendo-se esta temperatura durante 2 minutos. A temperatura de transferência para o espectrómetro foi de 250 °C. A deteção dos compostos foi efetuada por espectrometria de massa da corrente total de iões obtida por ionização por impacto eletrónico a 70 eV, sendo a temperatura da fonte de eletrões de 230 °C e a temperatura do detetor (quadrupolo) de 150 °C. Esta análise foi operada em modo *full-scan*, tendo sido estabelecido, para a deteção, o intervalo de razões massa-carga entre 40 e 500 m/z. A identificação dos compostos teve por base a comparação dos espectros obtidos com a base de dados NIST14 do instituto norte-americano *National Institute of Standards and Technology* (NIST).

A partir da análise por SPME-GC-MS foram identificados os compostos voláteis presentes em diferentes cervejas em estudo, obtendo-se informação semi-quantitativa, através dos valores de área de integração dos picos cromatográficos dos compostos identificados. Adicionalmente, foram também disponibilizados, para cada um dos voláteis identificados em cada cerveja, o valor do respetivo índice de Kovats (RI) e a % de probabilidade de identificação, baseada na base de dados NIST14.

Os dados obtidos permitiram construir uma base de dados inicial de compostos voláteis, onde se apresenta a identificação dos compostos voláteis e respetiva área de integração dos picos cromatográficos, recorrendo ao *software Microsoft® Office Excel® 2013* (Anexo I).

A base de dados construída inicialmente inclui todos os compostos voláteis identificados na análise cromatográfica associados a cada uma das amostras de cerveja em estudo. Uma vez que a análise cromatográfica foi semi-quantitativa, os valores de área de integração dos picos cromatográficos foram usados como estimativa da quantidade dos compostos nas amostras de cerveja, tendo-se assumido que a área de integração dos vários compostos é proporcional à sua concentração na amostra. No caso de compostos que não foram detetados em todas as amostras, foi-lhes imputado um valor nulo (0) de área de integração.

3.2.2 Exclusão de voláteis para a definição do perfil aromático e para a análise comparativa das cervejas

Em primeira instância, foi efetuada uma análise preliminar superficial com todos os compostos identificados (n=50), que, por sua vez, revelou que alguns compostos poderiam estar erroneamente identificados, como é exemplo da identificação do etanol em apenas uma das seis amostras.

Assim, de forma a eliminar fontes de erro e a melhorar a definição do perfil aromático e a análise de distinção entre cervejas, foram excluídos alguns dos compostos identificados. O critério para a exclusão dos compostos foi a percentagem de probabilidade na NIST14, decidindo-se excluir compostos com probabilidade de identificação baixa.

Para definir o ponto de corte de percentagem de probabilidade a partir do qual os compostos seriam excluídos da análise dispuseram-se todos os valores de percentagem de probabilidade de identificação pela NIST para os voláteis identificados em todas as amostras, de forma crescente e construiu-se um gráfico (figura 3). Assim, observam-se duas linhas de tendência, $y_1 = 2,35x - 11,15$ e $y_2 = 0,37x + 37,91$. O ponto de corte, definido como a interseção entre estas duas funções, foi 41% de percentagem de probabilidade de identificação. Todos os voláteis com percentagem de probabilidade da NIST inferior a 41% para qualquer uma das amostras de cerveja foram excluídos da análise.

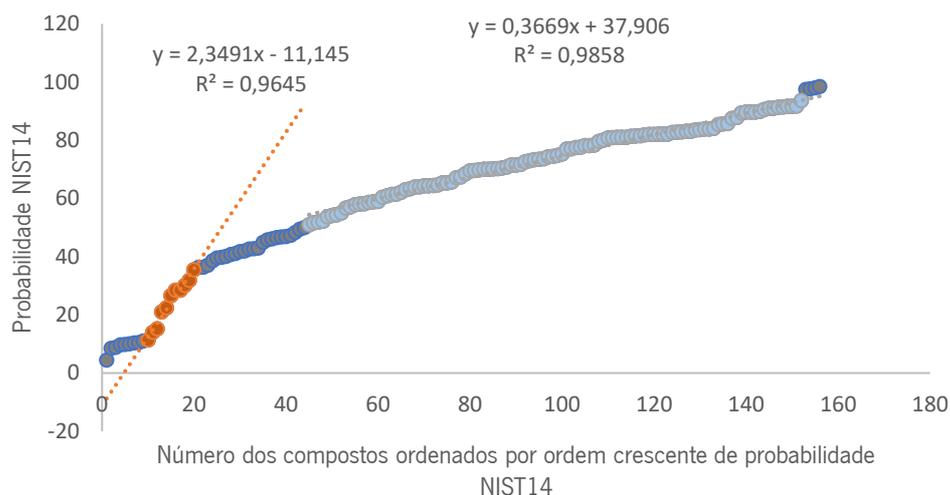


Figura 3 – Percentagens de probabilidade de identificação dos compostos voláteis identificados nas 6 amostras com base na NIST14 e linhas de tendência definidas empiricamente.

Além desta metodologia de seleção de voláteis, decidiu-se ainda excluir da análise três voláteis para os quais não foram encontrados valores de limiar de detecção e descritores de aroma (ver ponto 3.2.3).

No total, a análise contou com 28 voláteis selecionados, apresentados na seção de resultados desta dissertação.

3.2.3 Definição de perfis aromáticos das cervejas *Sovina*

A metodologia de definição de perfis aromáticos para cada uma das seis cervejas em estudo seguiu o seguinte procedimento:

1. Compilação de valores de limiares de detecção/percepção sensorial da literatura para os compostos voláteis identificados:
 - a. Foram recolhidos valores de limiares de percepção sensorial (odor e *flavour*), alguns deles associados a características descritivas, para 28 dos compostos voláteis identificados por GC-MS.
 - b. Quando encontradas várias referências distintas de limiares de percepção sensorial para um mesmo composto, foi determinado o valor mediano e usado esse valor nas fases posteriores do trabalho.
2. Compilação de descritores de aroma para os compostos voláteis identificados:

- a. Foram recolhidos um total de 77 descritores de aroma e *flavour* associados aos 28 compostos voláteis selecionados das cervejas. A recolha dos descritores foi feita com base no livro “Fenaroli's handbook of flavor ingredients” (Burdock, 2010), e de bases de dados *online*, tais como “FEMA Flavor Library”, “The Good Scents Co”, “Flavor Base 10th edition (Leffingwell&Associates)” e “Flavornet”.
- b. Procurou-se uniformizar a informação obtida com os descritores de aroma constantes no “Beer Flavour Map” (BFM). No entanto, a identificação de descritores de aroma foi bastante extensa e em muitos casos não foi possível encontrar correspondência na ferramenta em questão, pelo que foram considerados alguns descritores de aroma extra, não presentes no BFM.

A informação obtida nos pontos anteriores constitui a base de trabalho para se proceder à definição dos perfis aromáticos das diferentes cervejas em estudo.

Definição do impacto sensorial dos compostos nas cervejas em estudo

Como já referido neste trabalho, a perceção sensorial dos compostos não depende apenas da sua concentração na amostra, sendo fortemente influenciada pelo limiar de deteção desse composto pelos indivíduos.

Neste sentido, de forma a enfatizar os compostos com maior impacto no carácter aromático das cervejas, adaptou-se o método proposto por Morten C. Meilgaard para o cálculo de FUs, calculando para cada composto o rácio absoluto (Ra_c) entre o valor da respetiva área de integração (A_c) e o seu limiar de perceção (L_c) como apresentado na equação $Ra_c = \frac{A_c}{L_c}$ (Meilgaard, 1982). Este procedimento permite obter um valor ponderado da área do pico, possibilitando uma melhor estimativa do impacto efetivo dos voláteis no aroma das amostras. Uma metodologia semelhante foi proposta e validada por Elizabeth S. Keith e John J. Powers, obtendo uma correlação forte entre os valores dos logaritmos do valor ponderado da altura do pico cromatográfico e das unidades de *flavour* (obtidas pela razão entre concentração e limiar) para alguns compostos voláteis (Keith & Powers, 1968).

Adicionalmente, em cada amostra, calculou-se o impacto relativo de cada composto (IR_c), definido pela equação $IR_c = \frac{Ra_c}{\sum_{i=1}^n (Ra_c)_i} \times 100$, em que $\sum_{i=1}^n (Ra_c)_i$ corresponde ao somatório dos rácios absolutos dos compostos constituintes da cerveja.

Definição do perfil aromático, descritivo, para cada uma das cervejas Sovina

Os descritores de aroma compilados para os compostos voláteis em estudo foram, então, associados às amostras de cerveja. Para este efeito, foi desenvolvida uma base de dados semelhante à inicial, onde os compostos voláteis foram substituídos pelos vários respetivos descritores. Para possibilitar uma análise quantitativa dos descritores de aroma e *flavour*, atribuiu-se a cada descritor um rácio absoluto (Ra_d). $Ra_d = \sum_{i=1}^m (Ra_c)_i$, sendo m o número de compostos associados a um mesmo descritor, sendo a expressão anterior simplificada quando o descritor estava associado a um único composto volátil para $Ra_d = Ra_c$. Esta metodologia assume o pressuposto que compostos com *flavours* semelhantes são parcialmente aditivos, ou seja, a intensidade da sensação desencadeada pelo *flavour* combinado é idêntica à soma das intensidades individuais (Meilgaard, 1982).

A tabela 1 resume os descritores usados na metodologia desenvolvida, agrupados em categorias.

Tabela 1 – Descritores identificados para os compostos voláteis identificados nas cervejas.

Descritor
<i>Brandy, Conhaque, Rum, Vinho, Whisky, Alcoólico</i>
<i>Pão, Malte</i>
<i>Açúcar mascavado, Mel, doce</i>
<i>Caril, Coentros, Especiarias</i>
<i>Floral; Lavanda; Lilás; Magnólia; Neroli; Rosa</i>
<i>Ameixa; Ananás; Bagas; Banana; Cereja; Cítrico; Coco; Damasco; Framboesa; Frutado; Laranja; Limão; Maçã; Mirtilo, Morango; Pera; Pêssego; Tropical; Tutti-frutti; Uva</i>
<i>Amendoim; "Nutty"; Sementes</i>
<i>Herbáceo; Green; Relva;</i>
<i>Manteiga; Gordura; Lácteo Cremoso; Queijo; Óleo</i>
<i>Levedura; Fermentado</i>
<i>Cedro; Madeira; Tabaco</i>
<i>Queimado; Tostado, Cacau</i>
<i>Cogumelos; Poeira,</i>
<i>Alho; Cebola; Vegetal</i>
<i>Ceroso; Mofo, Cola, Pungente, Ranço, Sabão, Ácido, Etéreo, Seco, Âmbar, Fresco, Metálico</i>

Adicionalmente, em cada amostra, calculou-se o impacto relativo de cada descritor de aroma (IR_d), definido pela equação $IR_d = \frac{Ra_d}{\sum_{i=1}^n (Ra_d)_i} \times 100$, em que $\sum_{i=1}^n (Ra_d)_i$ corresponde ao somatório dos rácios absolutos dos descritores de aroma da cerveja.

3.2.4 Avaliação de diferenças no perfil aromático e de compostos voláteis das amostras de cerveja

Aplicou-se a análise de componentes principais (PCA), recorrendo ao *software* estatístico *XLSTAT*, versão 2014.5.03, para avaliar as diferenças entre a composição da fração volátil ou entre o perfil aromático das cervejas *Trigo*, *Stout*, *IPA*, *Bock*, *Amber* e *Helles*, utilizando como variáveis os valores de Ra_c ou Ra_d , respetivamente.

3.3 Desenvolvimento e validação de metodologias para avaliar a harmonização de cervejas e alimentos

No âmbito desta dissertação, propõe-se dois métodos para avaliar a intensidade da combinação com vista à harmonização de cervejas e alimentos. O primeiro é baseado na partilha de compostos voláteis com impacto no carácter aromático das cervejas e dos alimentos; o segundo é baseado na partilha de descritores de aromas entre as cervejas e alimentos.

Para validar estes métodos de harmonização, os resultados obtidos foram comparados com os resultados disponíveis obtidos previamente pela empresa foodpairing® para as cervejas *Stout* e *Helles* da marca *Sovina*, considerado o método de referência para efeitos de harmonização entre alimentos. A análise de foodpairing® da *Helles* e da *Stout* foi realizada em 2015 enquanto que a análise cromatográfica usada como base das metodologias desenvolvidas no âmbito deste trabalho, foi realizada no final de 2017.

Através da análise da informação disponível de foodpairing® para estas cervejas, foram selecionados 10 alimentos (manga, pêssego, ananás, morango, pera, chocolate negro, queijo camembert, queijo brie, queijo mozzarella e queijo gruyère), e recolhida informação sobre as respetivas composições em compostos voláteis usando a base de dados *Volatile Compounds in Food* (VCF), versão 15.2. Nos casos em que a informação sobre a concentração de compostos voláteis era apresentada sob a forma de intervalo de valores (29% dos casos) imputou-se o valor médio do intervalo. Nos casos em que a informação disponível era apenas qualitativa (54% dos casos) imputou-se o valor mediano da concentração obtido a partir das concentrações dos restantes compostos do alimento.

Para os compostos identificados nestes alimentos foram ainda compilados valores relativos aos respetivos limiares de perceção sensorial e descritores de aroma, tal como havia sido previamente feito para os compostos identificados nas cervejas. No final desta etapa, obteve-se uma base de dados auxiliar

contendo as informações relativas a 561 compostos voláteis dos alimentos, que se traduzem na análise de 212 descritores de aromas.

No caso dos alimentos, o rácio absoluto dos compostos (Ra_c) foi definido como o rácio entre o valor da respetiva concentração (C_c) e o seu limiar de perceção (L_c) tal como apresentado na equação $Ra_c = \frac{C_c}{L_c}$. Os valores de IR_c , Ra_d e IR_d foram calculados de acordo com o previamente descrito para os compostos e descritores aromáticos presentes nas cervejas.

As árvores de foodpairing® para as cervejas *Helles* e *Stout* com os alimentos selecionados são apresentadas nas figuras 4 e 5. Estas infografias representam, para cada cerveja, a intensidade da combinação com os alimentos, sendo que, quanto maior for a área verde associada a cada par, mais intensa será a combinação.

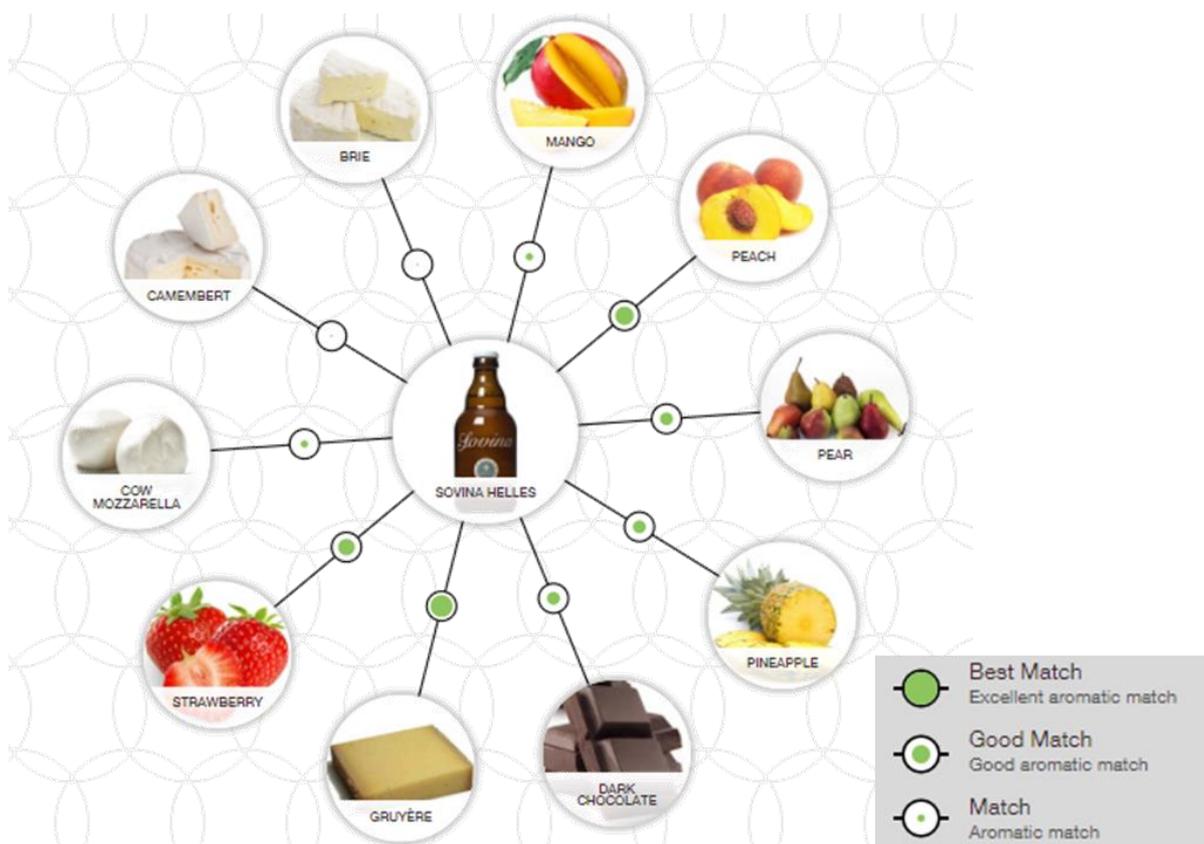


Figura 4 – Árvore de foodpairing® da cerveja Helles com os 10 alimentos selecionados.

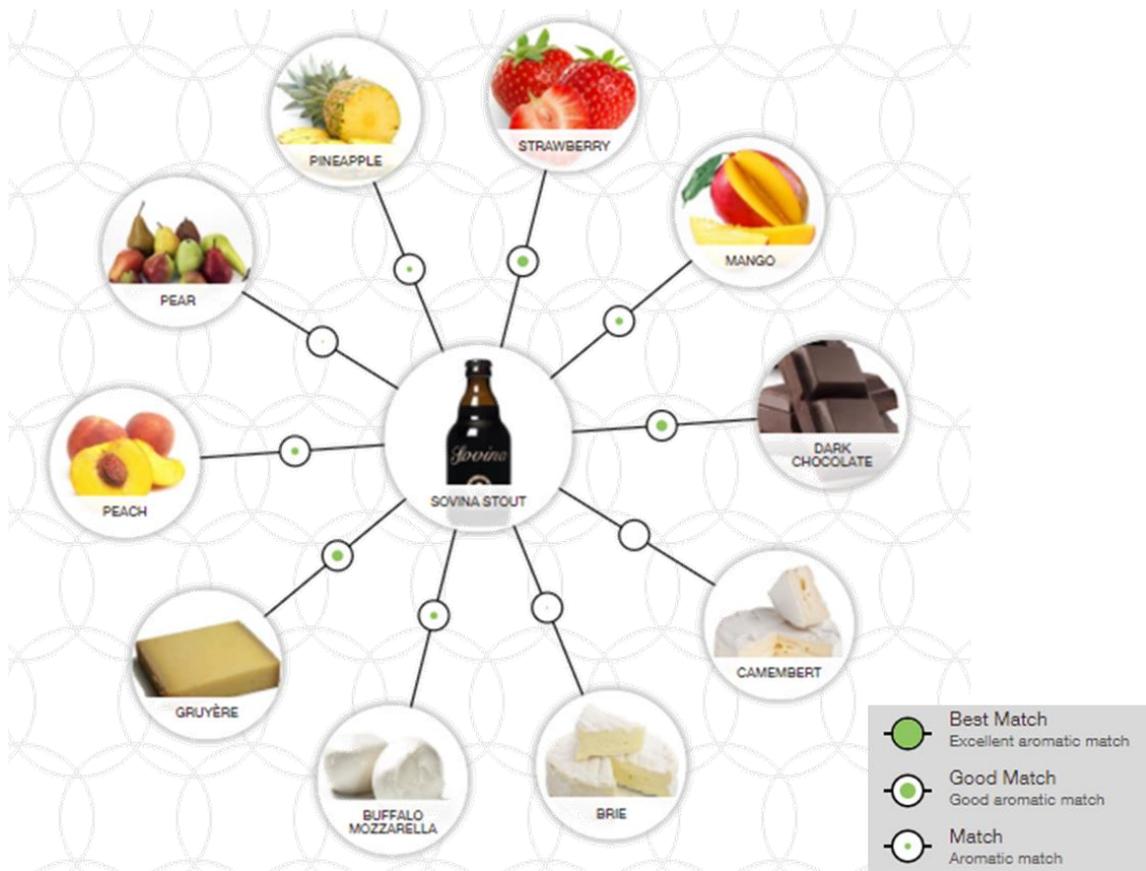


Figura 5 – Árvore de foodpairing® da cerveja Stout com os 10 alimentos selecionados.

Para quantificar a intensidade da combinação dos pares de cerveja-alimento e permitir uma comparação com os resultados das metodologias em desenvolvimento, foi necessário converter a informação constante nas infografias em dados numéricos. Assim, para cada par “cerveja-alimento” determinou-se o valor relativo da área da região verde face à área do círculo exterior.

3.3.1 Abordagem 1 – harmonização baseada na partilha de voláteis

Para cada elemento do par (cerveja e alimento), foi calculado o somatório dos valores de IR_c dos compostos partilhados (IR_{cp}) entre as cervejas *Helles* ou *Stout* e os 10 alimentos. Assume-se portanto que a intensidade da combinação será tanto maior quanto maior for o IR_{cp} do par cerveja-alimento. Para validar esta abordagem calculou-se o coeficiente de correlação de Pearson entre os valores de IR_{cp} dos pares cerveja-alimento e a intensidade da combinação obtida a partir das árvores de foodpairing®, recorrendo ao *software* estatístico *XLSTAT*, versão 2014.5.03.

Para facilitar a apresentação e discussão dos resultados, esta abordagem baseada na partilha de voláteis será designada ao longo deste trabalho por M1.

3.3.2 Abordagem 2 – harmonização baseada na partilha de aromas

Nesta metodologia, designada M2.1, foi aplicada uma metodologia semelhante à M1, mas considerando os descritores de aroma associados aos compostos voláteis.

Para cada elemento do par (cerveja e alimento), foi calculado o somatório dos valores de IR_d dos descritores de aromas partilhados (IR_{dp}) entre as cervejas *Helles* ou *Stout* e os 10 alimentos. Assume-se neste caso que a intensidade da combinação será tanto maior quanto maior for o IR_{dp} do par cerveja-alimento.

Para validar esta abordagem calculou-se o coeficiente de correlação de Pearson entre os valores de IR_{dp} dos pares cerveja-alimento e a intensidade da combinação obtida a partir das árvores de foodpairing®, recorrendo ao *software* estatístico *XLSTAT*, versão 2014.5.03.

No âmbito da harmonização baseada na partilha de aromas, procedeu-se ainda a uma análise de correlação adicional considerando apenas os aromas mais relevantes das cervejas em questão (metodologia M2.2). Dado o elevado número de descritores associados ao perfil aromático das cervejas *Helles* e *Stout*, e a presença de inúmeros descritores com impactos relativos muito baixos, optou-se por fazer uma seleção dos descritores com maior IR_d no perfil de cada cerveja. O critério de seleção dos descritores a considerar na análise dos aromas com maior impacto baseou-se na análise dos gráficos apresentados nas figuras 6 e 7.

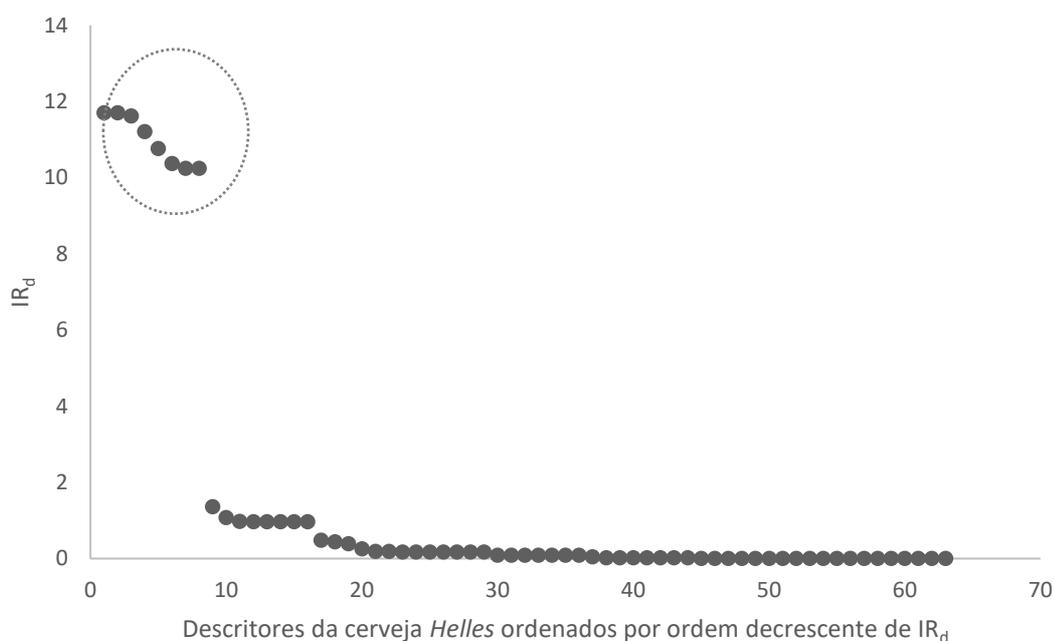


Figura 6 – IR_d dos descritores de aroma associados à cerveja *Helles*. O círculo tracejado destaca os descritores valores de IR_d superiores.

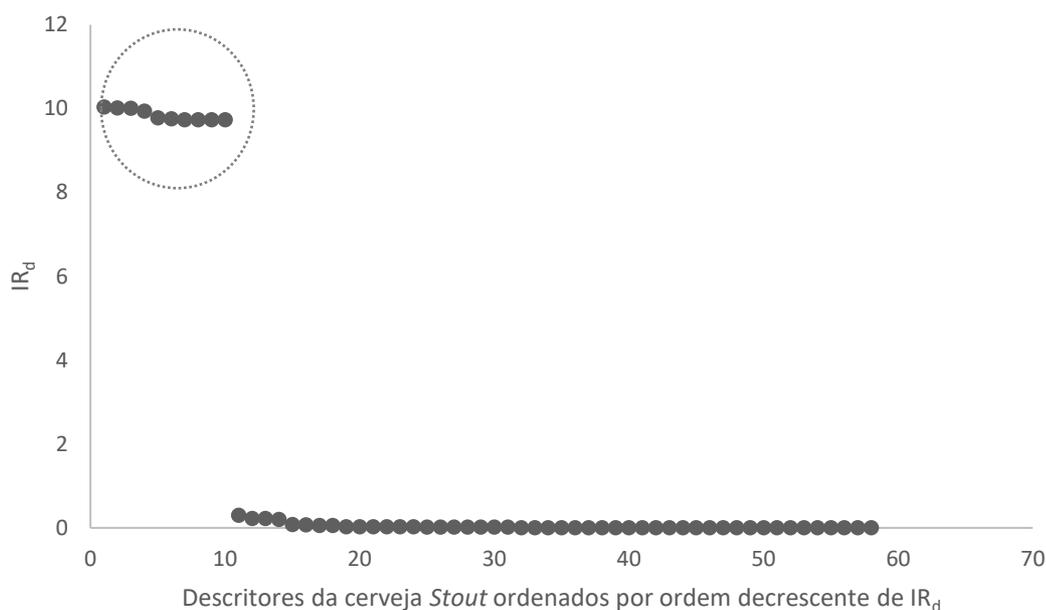


Figura 7 – IR_d dos descritores de aroma associados à cerveja Stout. O círculo tracejado destaca os descritores com valores de IR_d superiores.

Analisando as figuras anteriores distinguem-se claramente alguns descritores de aroma em ambas as cervejas com impactos relativos elevados e outros com impactos relativos muito baixos, na grande maioria dos casos com valores inferiores a 1%. Na análise adicional de correlação foram considerados apenas os descritores de maior impacto, assinalados nos gráficos.

Para validar esta abordagem calculou-se o coeficiente de correlação de Pearson entre os valores de IR_{dp} dos pares cerveja-alimento, considerando apenas os descritores de aroma da com maior impacto na cerveja, e a intensidade da combinação obtida a partir das árvores de foodpairing®, recorrendo ao *software* estatístico *XLSTAT*, versão 2014.5.03.

3.3.3 Comparação das abordagens em estudo com dados de preferência de consumidores

Para além validação das metodologias descritas com valores das árvores de aroma da foodpairing® foi feita uma validação adicional recorrendo aos resultados de preferência de uma painel de consumidores pelos pares constituídos pela cerveja *Helles* combinada com os queijos Mozzarella, Brie ou Camembert, descritos no trabalho “Aplicação e utilidade de bases de dados de compostos voláteis

de alimentos em investigação e desenvolvimento” (Carvalho, 2015). Nesse trabalho, a preferência dos provadores pelos pares *Helles* & queijo Brie, *Helles* & queijo Camembert ou *Helles* & queijo Mozzarella foi convertida em *scores*, sendo atribuído o valor 3 ao par mais apreciado, 1 ao menos apreciado e 2 ao par intermédio. Os *scores* médios resultantes da preferência dos consumidores são apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Scores médios de preferência para os pares: Helles e Brie, Helles e Camembert e Helles e Mozzarella. Os valores são proporcionais à preferência. Os scores dos 3 pares apresentam diferenças estatisticamente significativas, de acordo com o teste de Friedman ($p < 0,01$) (Carvalho, 2015).

Par	Score médio de preferência
<i>Helles & Brie</i>	2,52
<i>Helles & Camembert</i>	2,22
<i>Helles & Mozzarella</i>	1,26

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise de compostos voláteis, definição do perfil aromático e distinção entre cervejas artesanais

4.1.1 Determinação do perfil de compostos voláteis das cervejas em estudo

A ocorrência e a abundância de compostos voláteis característicos parecem constituir um fator importante na distinção entre as várias amostras. As áreas dos picos, em condições cromatográficas em que não haja saturação do detetor, são proporcionais às concentrações dos compostos nas amostras, condições que se verificaram nesta análise. Assim, as áreas absolutas dos picos dos vários compostos são comparáveis entre si e entre cervejas.

A análise das 6 cervejas *Sovina* identificou um total de 50 compostos voláteis, dos quais foram selecionados 28 para análises posteriores (tabela 3), tal como descrito na secção 3.2.2.

Analisando a tabela 3 é possível verificar alguns compostos exclusivos de algumas amostras, nomeadamente, o ácido dodecanóico na cerveja *Trigo*; o β -damascenona e o γ -nonalactona na *Stout*; na *IPA* o nerol, 2-undecanona, heptanoato de etilo e o isobutirato de 2-metilbutilo; e na *Amber* o acetato de 2-metilbutilo. Para as cervejas *Bock* e *Helles* não foram identificados, nesta análise, compostos característicos.

O cálculo dos valores das áreas relativas dos compostos voláteis (tabela 4) explicita o contributo da concentração de cada composta na fração volátil das cervejas.

Tabela 3 – Compostos voláteis identificados por GC-MS nas 6 cervejas em estudo e respectivos valores de área do pico cromatográfico.

	Trigo	Stout	IPA	Bock	Amber	Helles
Acetato de etilo	$9,7 \times 10^7$	0	$1,4 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$	0
3-metil-1-butanol	$1,3 \times 10^9$	$9,7 \times 10^8$	$6,9 \times 10^8$	$2,6 \times 10^9$	$2,1 \times 10^9$	$8,3 \times 10^8$
2-metil-1-butanol	$3,9 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$9,9 \times 10^8$	$9,8 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$
Acetato de isoamilo	$5,9 \times 10^8$	0	$2,2 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$1,9 \times 10^8$
Acetato de 2-metilbutilo	0	0	0	0	$8,8 \times 10^7$	0
Isobutirato de 2-metilbutilo	0	0	$3,8 \times 10^7$	0	0	0
Ácido hexanóico	$2,5 \times 10^8$	0	$7,0 \times 10^7$	0	0	0
Hexanoato de etilo	$3,4 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$
Linalol	$7,8 \times 10^7$	$8,9 \times 10^7$	$4,4 \times 10^8$	0	$9,7 \times 10^7$	$8,1 \times 10^7$
Heptanoato de etilo	0	0	$5,5 \times 10^7$	0	0	0
Álcool fenílico	$1,3 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$	$1,1 \times 10^9$
Ácido octanóico	$3,5 \times 10^9$	$6,6 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$
Octanoato de etilo	$2,7 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$5,6 \times 10^9$	$4,7 \times 10^9$	$5,4 \times 10^7$	$8,7 \times 10^9$
Nerol	0	0	$2,0 \times 10^8$	0	0	0
2-undecanona	0	0	$7,8 \times 10^7$	0	0	0
Acetato de fenetilo	$9,6 \times 10^8$	$6,6 \times 10^7$	$7,3 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$	$2,2 \times 10^9$	$4,5 \times 10^8$
Nonanoato de etilo	0	0	$1,3 \times 10^8$	0	$1,1 \times 10^8$	$8,3 \times 10^7$
γ -nonalactona	0	$7,4 \times 10^7$	$9,6 \times 10^8$	0	0	0
4-vinil-guaiacol	$3,7 \times 10^8$	0	0	0	0	$5,0 \times 10^7$
Ácido decanóico	$3,4 \times 10^9$	$3,1 \times 10^8$	$3,7 \times 10^8$	$7,4 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$
Decanoato de etilo	$4,4 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$	$8,8 \times 10^9$	$9,7 \times 10^9$	$1,2 \times 10^{10}$
Trans-4-decenoato de etilo	0	$7,6 \times 10^7$	$1,9 \times 10^8$	0	0	$3,6 \times 10^7$
Octanoato de isoamilo	$2,1 \times 10^7$	$4,7 \times 10^7$	$8,5 \times 10^7$	$5,9 \times 10^7$	$9,3 \times 10^7$	$1,6 \times 10^8$
β -Damascenona	0	$4,2 \times 10^7$	0	0	0	0
Ácido dodecanóico	$8,1 \times 10^7$	0	0	0	0	0
Humuleno	0	$1,3 \times 10^8$	$6,5 \times 10^7$	0	0	0
Dodecanoato de etilo	$4,5 \times 10^8$	$2,3 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$1,1 \times 10^9$	$7,9 \times 10^8$	$6,5 \times 10^8$
Decanoato de isoamilo	0	0	0	$6,5 \times 10^7$	$5,6 \times 10^7$	$9,8 \times 10^7$

Tabela 4 – Perfil de compostos voláteis de cada uma das 6 cervejas Sovina – valores relativos da área dos picos cromatográficos (%).

	Trigo	Stout	IPA	Bock	Amber	Helles
Acetato de etilo	0,5	0,0	0,8	1,1	0,7	0,0
3-metil-1-butanol	6,5	14,1	4,2	11,2	9,5	3,0
2-metil-1-butanol	1,9	4,6	1,7	4,3	4,4	1,3
Acetato de isoamilo	2,9	0,0	1,3	1,6	4,7	0,7
Acetato de 2-metilbutilo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0
Isobutirato de 2-metilbutilo	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
Ácido hexanóico	1,3	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0
Hexanoato de etilo	1,7	1,9	1,2	1,1	1,2	0,7
Linalol	0,4	1,3	2,7	0,0	0,4	0,3
Heptanoato de etilo	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0
Álcool fenílico	6,6	22,9	10,4	5,0	12,3	4,1
Ácido octanóico	17,3	9,5	8,9	6,8	6,0	6,4
Octanoato de etilo	13,2	14,5	34,2	20,4	0,2	31,6
Nerol	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0
2-undecanona	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0
Acetato de fenetilo	4,8	1,0	4,4	1,6	9,7	1,6
Nonanoato de etilo	0,0	0,0	0,8	0,0	0,5	0,3
γ -nonalactona	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0
4-vinil-guaiacol	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
Ácido decanóico	16,7	4,4	2,2	3,2	2,6	2,8
Decanoato de etilo	21,7	17,1	21,1	38,2	43,3	43,6
Trans-4-decenoato de etilo	0,0	1,1	1,2	0,0	0,0	0,1
Octanoato de isoamilo	0,1	0,7	0,5	0,3	0,4	0,6
β -damascenona	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0
Ácido dodecanóico	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Humuleno	0,0	1,9	0,4	0,0	0,0	0,0
Dodecanoato de etilo	2,2	3,3	1,4	4,9	3,5	2,4
Decanoato de isoamilo	0,0	0,0	0,0	0,3	0,2	0,4

Analisando a tabela 4 é possível verificar diferenças entre as cervejas na proporção de alguns compostos voláteis. Contudo, verifica-se que os ésteres etílicos dos ácidos octanóico e decanóico apresentam, para a generalidade das cervejas, valores de área relativa significativos, sendo a cerveja *Amber* exceção no caso do éster etílico do ácido octanóico. Alguns compostos destacam-se em algumas cervejas, nomeadamente, o ácido decanóico com um valor relativo especialmente elevado na cerveja *Trigo*, acontecendo o mesmo com o álcool fenílico na cerveja *Stout*.

A análise dos valores das áreas relativas dos picos cromatográficos permite perceber quais os compostos que existem em maior concentração em cada cerveja. A sua utilidade na análise comparativa entre cervejas, porém, é limitada. De facto, uma área relativa baixa significa apenas que, nessa cerveja, para além desse composto volátil, estão presentes outros em maior concentração. Reconhecendo essa

limitação, foram usados os valores absolutos das áreas dos picos no estudo comparativo entre as cervejas.

4.1.2 Determinação do impacto aromático dos voláteis identificados

Identificados os compostos voláteis e compilados os valores dos respetivos limiares de percepção sensorial, fez-se uma ponderação das áreas dos picos cromatográficos através da determinação dos Ra_c (tabela 5).

Tabela 5 – Valores de Ra_c dos compostos voláteis identificados nas cervejas.

	Trigo	Stout	IPA	Bock	Amber	Helles
Acetato de etilo	$1,9 \times 10^7$	0	$2,8 \times 10^7$	$4,9 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	0
3-metil-1-butanol	$3,2 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
2-metil-1-butanol	$1,7 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$4,3 \times 10^9$	$4,3 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$
Acetato de isoamilo	$1,4 \times 10^{10}$	0	$5,1 \times 10^9$	$8,8 \times 10^9$	$2,4 \times 10^{10}$	$4,4 \times 10^9$
Acetato de 2-metilbutilo	0	0	0	0	$8,0 \times 10^9$	0
Isobutirato de 2-metilbutilo	0	0	$1,4 \times 10^9$	0	0	0
Ácido hexanóico	$3,2 \times 10^7$	0	$8,7 \times 10^6$	0	0	0
Hexanoato de etilo	$6,9 \times 10^{10}$	$2,6 \times 10^{10}$	$3,8 \times 10^{10}$	$5,0 \times 10^{10}$	$5,5 \times 10^{10}$	$3,8 \times 10^{10}$
Linalol	$7,8 \times 10^9$	$8,9 \times 10^9$	$4,4 \times 10^{10}$	0	$9,7 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9$
Heptanoato de etilo	0	0	$4,4 \times 10^8$	0	0	0
Álcool fenilico	$3,8 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$	$7,9 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$
Ácido octanóico	$3,5 \times 10^8$	$6,6 \times 10^7$	$1,5 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$
Octanoato de etilo	$2,9 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$	$6,1 \times 10^{10}$	$5,1 \times 10^{10}$	$5,9 \times 10^8$	$1,4 \times 10^{10}$
Nerol	0	0	$9,2 \times 10^7$	0	0	0
2-undecanona	0	0	$9,5 \times 10^8$	0	0	0
Acetato de fenetilo	$1,9 \times 10^8$	$1,3 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$	$7,6 \times 10^7$	$4,4 \times 10^8$	$9,0 \times 10^7$
Nonanoato de etilo	0	0	$3,2 \times 10^8$	0	$2,9 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$
γ -nonalactona	0	$1,5 \times 10^7$	0	0	0	0
4-vinil-guaiacol	$1,2 \times 10^{11}$	0	0	0	0	$1,7 \times 10^{10}$
Ácido decanóico	$5,5 \times 10^8$	$5,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$9,6 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$
Decanoato de etilo	$3,6 \times 10^{11}$	$9,8 \times 10^{10}$	$2,9 \times 10^{11}$	$7,3 \times 10^{11}$	$8,1 \times 10^{11}$	$9,9 \times 10^{11}$
Trans-4-decenoato de etilo	0	$7,6 \times 10^6$	$1,9 \times 10^7$	0	0	$3,6 \times 10^6$
Octanoato de isoamilo	$1,9 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$	$7,7 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$	$8,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$
β -damascenona	0	$4,7 \times 10^{12}$	0	0	0	0
Ácido dodecanóico	$3,2 \times 10^7$	0	0	0	0	0
Humuleno	0	$1,1 \times 10^9$	$5,5 \times 10^8$	0	0	0
Dodecanoato de etilo	$9,0 \times 10^8$	$4,6 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$	$2,3 \times 10^9$	$2,3 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$
Decanoato de isoamilo	0	0	0	$2,2 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$

O cálculo de Ra_c permite obter um valor ponderado das áreas dos picos cromatográficos dos compostos voláteis face à sensação expectável por eles proporcionada e, portanto, avaliar o impacto dos

voláteis no carácter aromático das cervejas. Na verdade, compostos com concentrações elevadas podem ter um impacto reduzido face a outros compostos em concentrações mais baixas dependendo a magnitude da sensação veiculada do limiar de percepção sensorial.

O cálculo dos valores de IR_c (tabela 6) permite relativizar o contributo de cada um dos compostos voláteis na sensação aromática percebida durante o consumo da cerveja.

Tabela 6 – Valores de IR_c (%) para os compostos voláteis identificados nas cervejas.

	Trigo	Stout	IPA	Bock	Amber	Helles
Acetato de etilo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3-metil-1-butanol	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0
2-metil-1-butanol	0,3	0,0	0,3	0,5	0,5	0,1
Acetato de isoamilo	2,3	0,0	1,1	1,0	2,7	0,4
Acetato de 2-metilbutilo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0
Isobutirato de 2-metilbutilo	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0
Ácido hexanóico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Hexanoato de etilo	11,3	0,5	8,5	5,8	6,0	3,3
Linalol	1,3	0,2	9,9	0,0	1,1	0,7
Heptanoato de etilo	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Álcool fenilico	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
Ácido octanóico	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Octanoato de etilo	4,7	0,2	13,8	6,0	0,1	8,1
Nerol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2-undecanona	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
Acetato de fenetilo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Nonanoato de etilo	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
γ -nonalactona	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4-vinil-guaiacol	20,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4
Ácido decanóico	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Decanoato de etilo	59,7	2,0	65,1	86,2	88,4	85,8
Trans-4-decenoato de etilo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Octanoato de isoamilo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
β -damascenona	0,0	96,9	0,0	0,0	0,0	0,0
Ácido dodecanóico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Humuleno	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Dodecanoato de etilo	0,1	0,0	0,1	0,3	0,2	0,1
Decanoato de isoamilo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Comparando os valores de IR_c dos compostos (tabela 6) com os valores de área relativa (tabela 4), verificam-se várias diferenças. No caso da cerveja *Stout* verifica-se o exemplo mais claro deste facto, relativamente ao composto β -damascenona. Este composto apresenta um valor de área relativa do pico cromatográfico bastante baixo, apenas 0,6%, correspondendo a uma concentração relativa baixa comparativamente a outros compostos presentes na amostra. Contudo, após a ponderação do valor da área recorrendo ao limiar de perceção sensorial, o valor do impacto desse composto na cerveja *Stout* passa a corresponder a cerca de 97%. Isto acontece devido ao facto do limiar de perceção sensorial para este composto ser muito baixo (limiar mediano considerado: 0,000009 ppm), exponenciando a sensação aromática a ele associada. Também nas outras cervejas se verificam diferenças a este nível, ainda que com menos expressão. Um exemplo concreto é, no caso da cerveja *Trigo* o 4-vinilguaiacol, que apresenta um dos impactos relativos mais elevados (20%), apresenta um valor de área relativa baixo (1,8%).

Estes resultados demonstram que nem sempre os compostos em maior concentração são os mais relevantes para o carácter aromático dos alimentos. Para além do fator quantitativo é importante considerar os limiares de perceção sensorial que são importantes indicadores do impacto dos voláteis na sensação aromática associada aos alimentos.

4.1.3 Definição do perfil aromático para cada uma das cervejas *Sovina*

Os valores de Ra_d , para os descritores aromáticos das cervejas, determinados a partir dos termos descritivos associados aos compostos voláteis identificados (secção 3.2.3), apresentam-se na tabela 7.

Tabela 7 – Descritores aromáticos considerados para os voláteis identificados e respetivos Ra_d para as cervejas em estudo

	<i>Trigo</i>	<i>Stout</i>	<i>IPA</i>	<i>Bock</i>	<i>Amber</i>	<i>Helles</i>
<i>Ácido</i>	$5,8 \times 10^8$	$5,0 \times 10^7$	$6,9 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$9,6 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$
<i>Açúcar mascavado</i>	0	$4,7 \times 10^{12}$	0	0	0	0
<i>Alcoólico</i>	$2,0 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	$4,9 \times 10^9$	$4,8 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$
<i>Alho</i>	$1,2 \times 10^{11}$	0	0	0	0	$1,7 \times 10^{10}$
<i>Âmbar</i>	$1,2 \times 10^{11}$	0	0	0	0	$1,7 \times 10^{10}$
<i>Ameixa</i>	0	$4,7 \times 10^{12}$	0	0	0	0
<i>Amendoim</i>	$1,2 \times 10^{11}$	0	0	0	0	$1,7 \times 10^{10}$
<i>Ananás</i>	$9,7 \times 10^{10}$	$3,7 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{11}$	$5,6 \times 10^{10}$	$1,3 \times 10^{11}$
<i>Bagas</i>	0	0	$4,4 \times 10^8$	0	0	0
<i>Banana</i>	$8,3 \times 10^{10}$	$2,6 \times 10^{10}$	$4,5 \times 10^{10}$	$5,9 \times 10^{10}$	$8,9 \times 10^{10}$	$4,3 \times 10^{10}$
<i>Brandy</i>	$6,9 \times 10^{10}$	$2,6 \times 10^{10}$	$3,8 \times 10^{10}$	$5,0 \times 10^{10}$	$5,6 \times 10^{10}$	$3,8 \times 10^{10}$
<i>Cacau</i>	$5,1 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$	$7,1 \times 10^8$	$9,6 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$
<i>Caril</i>	$1,2 \times 10^{11}$	0	0	0	0	$1,7 \times 10^{10}$
<i>Cebola</i>	$1,7 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$4,3 \times 10^9$	$4,3 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$
<i>Cedro</i>	$1,2 \times 10^{11}$	0	0	0	0	$1,7 \times 10^{10}$

Tabela 7 – Descritores aromáticos considerados para os voláteis identificados e respectivos Ra_d para as cervejas em estudo (cont.)

	<i>Trigo</i>	<i>Stout</i>	<i>IPA</i>	<i>Bock</i>	<i>Amber</i>	<i>Helles</i>
<i>Cereja</i>	$1,9 \times 10^7$	0	$2,8 \times 10^7$	$4,9 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	0
<i>Ceroso</i>	$4,7 \times 10^{11}$	$1,4 \times 10^{11}$	$4,3 \times 10^{11}$	$8,4 \times 10^{11}$	$8,8 \times 10^{11}$	$1,1 \times 10^{12}$
<i>Cítrico</i>	$8,4 \times 10^9$	$9,0 \times 10^9$	$4,4 \times 10^{10}$	$1,2 \times 10^8$	$9,8 \times 10^9$	$8,3 \times 10^9$
<i>Coco</i>	$3,3 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$7,7 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$	$8,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$
<i>Coentros</i>	$7,8 \times 10^9$	$8,9 \times 10^9$	$4,4 \times 10^{10}$	0	$9,7 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9$
<i>Cogumelos</i>	$2,9 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$	$6,1 \times 10^{10}$	$5,1 \times 10^{10}$	$5,9 \times 10^8$	$9,4 \times 10^{10}$
<i>Cola</i>	$1,4 \times 10^{10}$	0	$5,1 \times 10^9$	$8,8 \times 10^9$	$2,4 \times 10^{10}$	$4,4 \times 10^9$
<i>Conhaque</i>	$3,9 \times 10^{11}$	$1,1 \times 10^{11}$	$3,5 \times 10^{11}$	$7,9 \times 10^{11}$	$8,1 \times 10^{11}$	$1,1 \times 10^{12}$
<i>Cremoso</i>	$2,9 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$	$6,1 \times 10^{10}$	$5,1 \times 10^{10}$	$5,9 \times 10^8$	$9,4 \times 10^{10}$
<i>Damasco</i>	$2,9 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$	$6,1 \times 10^{10}$	$5,1 \times 10^{10}$	$5,9 \times 10^8$	$9,4 \times 10^{10}$
<i>Doce</i>	$4,7 \times 10^{11}$	$4,8 \times 10^{12}$	$4,4 \times 10^{11}$	$8,4 \times 10^{11}$	$8,9 \times 10^{11}$	$1,1 \times 10^{12}$
<i>Especiarias</i>	$1,2 \times 10^{11}$	$4,5 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$3,3 \times 10^8$	$7,9 \times 10^8$	$1,7 \times 10^{10}$
<i>Etéreo</i>	$1,7 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$4,3 \times 10^9$	$1,2 \times 10^{10}$	$1,5 \times 10^9$
<i>Fermentado</i>	$3,2 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
<i>Floral</i>	$3,8 \times 10^{10}$	$4,7 \times 10^{12}$	$1,1 \times 10^{11}$	$5,4 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{11}$
<i>Framboesa</i>	0	$4,7 \times 10^{12}$	0	0	0	0
<i>Fresco</i>	$1,2 \times 10^{11}$	$1,8 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$	$4,6 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$	$1,8 \times 10^{10}$
<i>Frutado</i>	$4,6 \times 10^{11}$	$4,8 \times 10^{12}$	$3,9 \times 10^{11}$	$8,4 \times 10^{11}$	$8,8 \times 10^{11}$	$1,1 \times 10^{12}$
<i>Gordura</i>	$3,0 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$	$6,3 \times 10^{10}$	$5,1 \times 10^{10}$	$8,2 \times 10^8$	$9,4 \times 10^{10}$
<i>Green</i>	$7,6 \times 10^{10}$	$3,5 \times 10^{10}$	$8,3 \times 10^{10}$	$5,0 \times 10^{10}$	$6,6 \times 10^{10}$	$4,6 \times 10^{10}$
<i>Herbáceo</i>	$1,9 \times 10^7$	0	$2,8 \times 10^7$	$4,9 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	0
<i>Lácteo</i>	$2,9 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$	$6,1 \times 10^{10}$	$5,1 \times 10^{10}$	$5,9 \times 10^8$	$9,4 \times 10^{10}$
<i>Laranja</i>	$7,8 \times 10^9$	$8,9 \times 10^9$	$4,5 \times 10^{10}$	0	$9,7 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9$
<i>Lavanda</i>	$7,8 \times 10^9$	$8,9 \times 10^9$	$4,4 \times 10^{10}$	0	$9,7 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9$
<i>Levedura</i>	$1,9 \times 10^8$	$1,3 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$	$7,6 \times 10^7$	$4,4 \times 10^8$	$9,0 \times 10^7$
<i>Lilás</i>	$3,8 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$	$7,9 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$
<i>Limão</i>	$7,8 \times 10^9$	$8,9 \times 10^9$	$4,4 \times 10^{10}$	0	$9,7 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9$
<i>Maçã</i>	$4,5 \times 10^{11}$	$4,8 \times 10^{12}$	$3,8 \times 10^{11}$	$7,8 \times 10^{11}$	$9,0 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{12}$
<i>Madeira</i>	$1,3 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{10}$	$4,5 \times 10^{10}$	0	$9,7 \times 10^9$	$2,5 \times 10^{10}$
<i>Magnólia</i>	0	0	$9,2 \times 10^7$	0	0	0
<i>Malte</i>	$2,0 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	$4,9 \times 10^9$	$4,8 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$
<i>Manteiga</i>	0	$1,5 \times 10^7$	0	0	0	0
<i>Mel</i>	$5,7 \times 10^8$	$4,7 \times 10^{12}$	$6,3 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$	$1,2 \times 10^9$	$4,1 \times 10^8$
<i>Metálico</i>	$3,2 \times 10^7$	0	0	0	0	0
<i>Mirtilo</i>	$7,8 \times 10^9$	$8,9 \times 10^9$	$4,4 \times 10^{10}$	0	$9,7 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9$
<i>Mofo</i>	$2,9 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$	$6,1 \times 10^{10}$	$5,1 \times 10^{10}$	$5,9 \times 10^8$	$9,4 \times 10^{10}$
<i>Morango</i>	0	0	$4,4 \times 10^8$	0	0	0
<i>Neroli</i>	0	0	$9,2 \times 10^7$	0	0	0
<i>Nutty</i>	0	0	$3,2 \times 10^8$	0	$2,9 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$
<i>Óleo</i>	$3,6 \times 10^{11}$	$9,8 \times 10^{10}$	$2,9 \times 10^{11}$	$7,3 \times 10^{11}$	$8,1 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{12}$
<i>Pão</i>	$3,8 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$	$7,9 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$
<i>Pêra</i>	$3,8 \times 10^{11}$	$1,1 \times 10^{11}$	$3,4 \times 10^{11}$	$7,4 \times 10^{11}$	$8,4 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{12}$
<i>Pêssego</i>	0	$1,5 \times 10^7$	0	0	0	0
<i>Poeira</i>	$5,2 \times 10^8$	$5,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$9,6 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$
<i>Pungente</i>	$3,5 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
<i>Queijo</i>	$3,8 \times 10^8$	$6,6 \times 10^7$	$1,1 \times 10^9$	$1,6 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$

Tabela 7 – Descritores aromáticos considerados para os voláteis identificados e respectivos Ra_d para as cervejas em estudo (cont.)

	<i>Trigo</i>	<i>Stout</i>	<i>IPA</i>	<i>Bock</i>	<i>Amber</i>	<i>Helles</i>
<i>Queimado</i>	$3,2 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
<i>Ranço</i>	$9,0 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$2,3 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$
<i>Relva</i>	$9,0 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$2,3 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$
<i>Roasted</i>	$1,2 \times 10^{11}$	$1,4 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$4,3 \times 10^9$	$4,3 \times 10^9$	$1,8 \times 10^{10}$
<i>Rosa</i>	$8,4 \times 10^9$	$4,7 \times 10^{12}$	$4,6 \times 10^{10}$	$4,1 \times 10^8$	$1,1 \times 10^{10}$	$8,6 \times 10^9$
<i>Rum</i>	$1,9 \times 10^7$	0	$3,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^7$	$3,2 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$
<i>Sabão</i>	$1,2 \times 10^9$	$5,3 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$2,4 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$
<i>Seco</i>	$1,2 \times 10^{11}$	0	0	0	0	$1,7 \times 10^{10}$
<i>Semente</i>	0	0	$4,4 \times 10^8$	0	0	0
<i>Tabaco</i>	$1,9 \times 10^8$	$1,3 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$	$7,6 \times 10^7$	$4,4 \times 10^8$	$9,0 \times 10^7$
<i>Tropical</i>	0	0	$1,7 \times 10^9$	0	$2,9 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$
<i>Tutti-frutti</i>	0	0	0	0	$8,0 \times 10^9$	0
<i>Uva</i>	$3,6 \times 10^{11}$	$4,8 \times 10^{12}$	$2,9 \times 10^{11}$	$7,3 \times 10^{11}$	$8,1 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{12}$
<i>Vegetal</i>	$3,5 \times 10^8$	$6,6 \times 10^7$	$1,5 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$
<i>Vinho</i>	$2,1 \times 10^9$	$1,8 \times 10^9$	$2,5 \times 10^9$	$4,6 \times 10^9$	$5,3 \times 10^9$	$2,1 \times 10^9$
<i>Whisky</i>	$2,0 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	$4,9 \times 10^9$	$4,8 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$

Analisando a tabela 7 é possível verificar algumas diferenças nos termos descritivos associados a cada cerveja. Destacam-se alguns descritores por serem exclusivos ou por surgirem em apenas algumas das cervejas em estudo. Os descritores: *açúcar mascavado*, *ameixa*, *framboesa*, *pêssego* e *manteiga*, por exemplo, são exclusivos da cerveja *Stout* o descritor *tutti-frutti* é exclusivo da cerveja *Amber*, entre outros.

Tal como efetuado para os voláteis, foi ainda calculada, para as cervejas *Helles* e *Stout* a proporção de cada descritor nos respetivos perfis, IR_d . Estes resultados poderão ser consultados quando apresentados os resultados relativos à metodologia de harmonização.

É importante discutir algumas questões relativamente a esta determinação do perfil aromático das cervejas baseada nos termos descritivos associados aos respetivos voláteis. Na metodologia usada neste trabalho foram considerados todos os termos descritivos de aroma relatados na literatura para os voláteis. Contudo, muitos desses termos são descritos para os compostos isolados, em solução com determinada concentração. Questiona-se se os termos descritivos considerados correspondem à sensação veiculada pelos compostos em matrizes alimentares complexas como é o caso das cervejas. Esta questão será novamente discutida ao longo da análise dos resultados desta dissertação.

4.1.4 Avaliação de diferenças entre as várias cervejas em estudo

Diferenças entre cervejas baseadas no perfil de compostos voláteis

Os resultados da PCA realizada para avaliar as diferenças entre cervejas, baseadas nos compostos voláteis, nelas identificados, apresentam-se na tabela 8, que resume os autovalores obtidos e a variância explicada por cada fator/componente. Foram consideradas, para análise, as 3 primeiras componentes, F1, F2 e F3.

Tabela 8 – Autovalores obtidos na PCA e valores de variância individuais e acumulados – Metodologia 1, com base nos valores de $R\alpha_c$ dos compostos voláteis identificados nas cervejas

	F1	F2	F3
Autovalor	9,5	6,6	5,8
Variância (%)	34,0	23,4	20,6
Variância acumulada (%)	34,0	57,4	78,0

As 3 componentes principais apresentadas na tabela explicam, no seu conjunto, 78% das diferenças entre as amostras de cerveja.

A interpretação da PCA teve em consideração os *loadings* das variáveis e os *scores* obtidos de cada observação para as componentes da PCA. Os *loadings* revelam a projeção das variáveis relativamente aos fatores, ou seja, correspondem à correlação entre as variáveis e os fatores. Os *scores* são a medida obtida pela PCA para cada observação relativamente a cada componente. As tabelas 9 e 10 resumem os valores dos *loadings* das variáveis e *scores* das observações para cada componente.

Tabela 9 – Loadings das variáveis, $R\alpha_c$ dos compostos voláteis identificados nas cervejas, relativamente às três componentes obtidas por PCA. A negrito estão assinalados os loadings cujo valor é igual ou superior a 0,6.

	F1	F2	F3
Acetato de etilo	-0,4	-0,3	-0,4
3-metil-1-butanol	-0,8	-0,3	0,1
2-metil-1-butanol	-0,7	-0,5	0,0
Acetato de isoamilo	-0,7	-0,2	-0,5
Acetato de 2-metilbutilo	-0,5	-0,5	-0,2
Isobutirato de 2-metilbutilo	0,7	-0,1	-0,6
Ácido hexanóico	-0,1	0,9	-0,5
Hexanoato de etilo	-0,8	0,4	-0,5
Linalol	0,8	-0,1	-0,6
Heptanoato de etilo	0,7	-0,1	-0,6
Álcool fenilico	-0,1	-0,4	-0,3
Ácido octanóico	-0,4	0,7	-0,5
Octanoato de etilo	0,2	-0,1	-0,2
Nerol	0,7	-0,1	-0,6
2-undecanona	0,7	-0,1	-0,6
Acetato de fenetilo	-0,5	-0,3	-0,5
Nonanoato de etilo	0,3	-0,6	-0,6
γ -nonalactona	0,4	0,2	0,8
4-vinil-guaiacol	-0,3	0,9	-0,3
Ácido decanóico	-0,5	0,8	-0,3
Decanoato de etilo	-0,6	-0,6	-0,1
Trans-4-decenoato de etilo	0,9	-0,1	-0,3
Octanoato de isoamilo	0,1	-0,7	0,0
β -damascenona	0,4	0,2	0,8
Ácido dodecanóico	-0,3	0,9	-0,3
Humuleno	0,8	0,1	0,5
Dodecanoato de etilo	-0,8	-0,4	0,1
Decanoato de isoamilo	-0,5	-0,6	0,2

Tabela 10 – Scores das amostras de cerveja para as três componentes resultantes da PCA. Metodologia 1 com base nos valores de $R\alpha_c$ dos compostos voláteis identificados nas cervejas.

	F1	F2	F3
Trigo	- 2,1	4,6	-1,4
Stout	2,8	1,0	3,9
IPA	4,6	-0,7	-3,1
Bock	-2,3	-1,1	0,8
Amber	-2,9	-2,7	-0,9
Helles	-0,1	-1,2	0,7

A análise das tabelas anteriores permite evidenciar os compostos com maior influência para as diferenças entre as cervejas (tabela 9) e qual o posicionamento de cada cerveja no novo referencial (tabela 10). A figura 8 representa espacialmente as duas primeiras componentes, sendo apresentadas as observações posicionadas de acordo com os respectivos scores, resultantes da PCA.

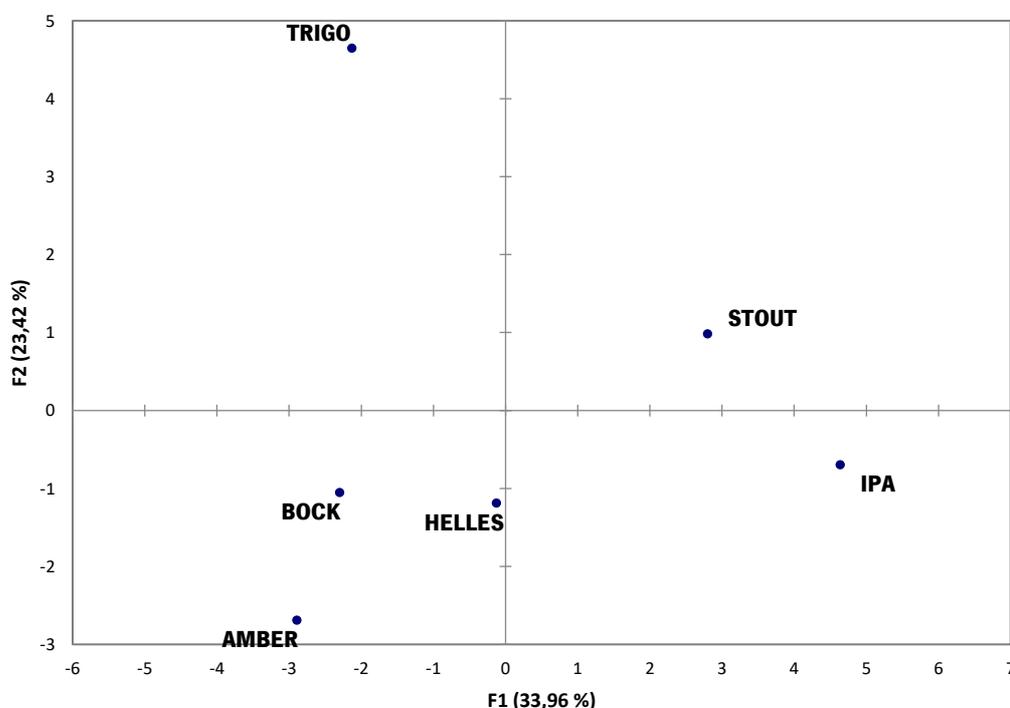


Figura 8 – Representação gráfica dos scores das cervejas para as duas primeiras componentes, F1 e F2, resultantes da PCA com base nos valores de Ra_c dos compostos voláteis identificados.

Analisando as tabelas 8, 9 e 10 e as figuras 8 e 9, é possível fazer algumas observações pertinentes no sentido de distinguir as cervejas através dos compostos voláteis, nelas identificados.

Em primeira instância, a observação da figura 8 permite avaliar o posicionamento das várias cervejas nos vários quadrantes que conjugam as duas primeiras componentes da PCA, F1 e F2. A cerveja *Trigo* demarca-se significativamente das restantes, encontrando-se isolada no quadrante superior esquerdo, apresentando uma elevada contribuição da F2. Ainda na porção superior do gráfico, mas no lado direito surge a cerveja *Stout*. Também do lado direito do gráfico, mas no quadrante inferior surge a cerveja *IPA*. As restantes cervejas: *Helles*, *Bock* e *Amber*, são as mais próximas entre si, encontrando-se todas no quadrante inferior esquerdo.

Fazendo uma análise mais aprofundada por componentes, as cervejas que mais se distanciam ao longo da F1 são a *IPA* e *Amber*. Assume-se, portanto, que os compostos voláteis com maiores cargas em F1 (3-metil-1-butanol; 2-metil-1-butanol; acetato de isoamilo; isobutirato de 2-metilbutilo; hexanoato de etilo; linalol; heptanoato de etilo; nerol; 2-undecanona; decanoato de etilo; trans-4-decenoato de etilo;

humuleno; dodecanoato de etilo) podem ser importantes na distinção entre a *IPA* e *Amber*, para além de condicionarem, também, o posicionamento das cervejas restantes ao longo de F1.

Em primeiro lugar, destaca-se o composto trans-4-decenoato de etilo (*loading* = 0,9), pico cromatográfico que apresenta na cerveja *IPA* a área mais elevada, sendo também identificado nas cervejas *Stout* e *Helles*. Pelo contrário, não é identificado nas restantes cervejas. Este facto parece, então, contribuir para o posicionamento das cervejas *IPA* e *Stout* na metade positiva do eixo correspondente à F1, uma vez que este composto se correlaciona positivamente com F1. Também o humuleno (0,8) se correlaciona positivamente com F1 contribuindo para o posicionamento da *IPA* e *Stout* no lado positivo desta componente, por ter sido identificado apenas nestas duas cervejas. Para além destes compostos, existem outros com *loadings* significativos em F1, como por exemplo o heptanoato de etilo, o isobutirato de 2-metilbutilo, o nerol e a 2-undecanona que, por serem exclusivos desta cerveja, contribuem para a posição positiva distintiva da *IPA* relativamente a esta componente (*loadings* = 0,7). No caso do linalol (*loading* = 0,8), este composto apesar de ser identificado em quase todas as amostras (apenas não identificado na *Bock*), apresenta, para a *IPA*, uma área mais elevada, por isto contribuindo também para o posicionamento da *IPA* em relação à F1.

No sentido oposto, os restantes compostos com *loadings* significativos para a F1 [3-metil-1-butanol, hexanoato de etilo, decanoato de etilo e dodecanoato de etilo (-0,8), 2-metil-1-butanol e acetato de isoamilo (-0,7)], apresentam correlações negativas com esta componente. Estes compostos apresentam valores superiores de áreas cromatográficas nas cervejas *Amber*, *Bock*, *Trigo* e, em certos casos, também na *Helles*, contribuindo, dessa forma, para o posicionamento destas cervejas na metade negativa da F1.

Relativamente a F2, a cerveja *Trigo* demarca-se particularmente das restantes. Para esta componente, os compostos voláteis com maior carga e são o ácido hexanóico, ácido octanóico, nonanoato de etilo, 4-vinil-guaiacol, ácido decanóico, octanoato de isoamilo, ácido dodecanóico e decanoato de isoamilo. Entre estes, os mais representados pela F2 são o 4-vinil-guaiacol (0,9) e os ácidos: hexanóico (0,9), decanóico (0,8) e dodecanóico (0,9). Todos estes compostos e também o ácido octanóico (0,7), apresentam, caracteristicamente, valores quantitativos superiores ou mesmo exclusivos para a cerveja *Trigo*, condicionando o distanciamento entre esta cerveja e as restantes.

Os restantes compostos que apresentam valores de *loading* superiores para a F2, nomeadamente o nonanoato de etilo (-0,6), o decanoato de isoamilo (-0,6) e o octanoato de isoamilo (-0,7) correlacionam-se negativamente com F2 e, por isso, com a cerveja *Trigo*. Na realidade, os dois

primeiros voláteis referidos não foram identificados na cerveja *Trigo* e o último apresenta o valor quantitativo mais baixo para essa cerveja de entre todas as restantes.

Na figura 9 incluiu-se graficamente a componente F3. Esta componente distingue sobretudo as cervejas *Stout* e *IPA*. Verifica-se que a *Stout* se posiciona na metade positiva do eixo F3, ao contrário da *IPA* que se posiciona na metade negativa.

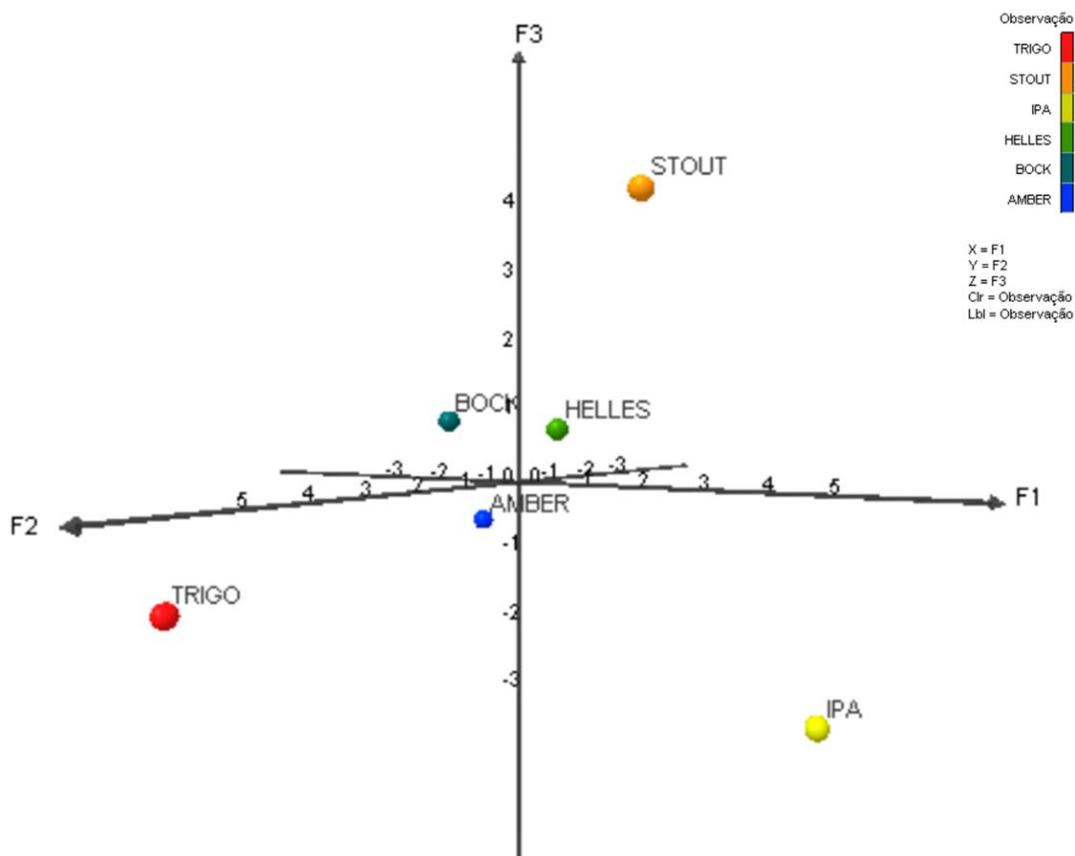


Figura 9 – Representação gráfica a 3D dos scores das cervejas para as três primeiras componentes principais, F1, F2 e F3 resultantes da PCA com base nos valores de R_{α_c} dos compostos voláteis identificados.

Os compostos que apresentam maior carga para F3 são: a γ -nonalactona e a β -damascenona (0,8); o isobutirato de 2-metilbutilo, o linalol, o heptanoato de etilo, o nerol a 2-undecanona e o nonanoato de etilo (-0,6). Os dois primeiros voláteis referidos e principais contribuidores de F3 são de identificação exclusiva na cerveja *Stout* e os restantes são exclusivos ou aparecem em maior quantidade, mas na cerveja *IPA*. Estas diferenças relativamente aos voláteis exclusivos em cada uma das amostras são as principais razões para o posicionamento distanciado destas cervejas desta cerveja na componente F3.

A figura 9 permite ainda observar o distanciamento espacial entre as várias cervejas. Globalmente, observa-se um claro distanciamento espacial entre as cervejas *Trigo*, *IPA*, *Stout* e um quarto grupo constituído pelas cervejas, *Helles*, *Bock* e *Amber*.

Estes resultados parecem ser de certa forma consistentes com a categorização das cervejas de acordo com as suas famílias e subfamílias de *flavour*. De facto, há uma clara separação das cervejas *IPA* e *Trigo* relativamente às restantes e uma proximidade entre as cervejas *Helles* e *Bock*, tal como é sugerido pela classificação considerada. Relativamente às cervejas *Stout* e *Amber*, de acordo com a classificação, esperar-se-ia uma maior proximidade por caírem ambas na categoria “malty ales”, contudo, apesar de serem ambas cervejas de alta fermentação, as tipologias de malte usadas nos respetivos processos produtivos são distintas, sendo a cerveja *Stout* produzida com recurso a maior quantidade de maltes escuros, com maior grau de torrefação e, por isso, à partida com diferentes características de aroma. Isto sugere que as variedades de malte usadas são de elevada importância na distinção das cervejas e, por isso, poderá ser necessário melhorar a forma de classificação das cervejas, tornando-a mais específica, uma vez que estes resultados indicam a inclusão de cervejas com uma componente aromática bastante distinta na mesma subfamília “malty ales”. Adicionalmente, verifica-se uma grande proximidade entre a cerveja *Amber* e as cervejas *Helles* e *Bock*, classificadas como “malty lagers”. Tal proximidade pode dever-se ao uso de variedades de malte semelhantes no processo produtivo, já que é no malte que ocorrem os constituintes que caracterizam o *flavour* das cervejas “malty”.

Diferenças entre cervejas baseadas no perfil aromático descritivo

A PCA também foi usada para facilitar a distinção das cervejas a partir dos descritores de aroma associados aos seus compostos voláteis. A tabela 11 resume os autovalores obtidos, para as componentes F1, F2 e F3 e a variância explicada pela PCA.

Tabela 11 – Autovalores obtidos na PCA e valores de variabilidade individuais e acumulados – Metodologia 2 com base nos valores de $R\alpha_d$ dos descritores do perfil aromático das cervejas.

	F1	F2	F3
Autovalor	23,1	19,8	19,1
Variância (%)	30,0	25,7	24,8
Variância acumulada (%)	30,0	55,7	80,5

No caso desta metodologia, as 3 primeiras componentes, F1, F2 e F3 explicam cerca de 81% das diferenças entre as amostras de cerveja. As tabelas 12 e 13 apresentam os valores dos *loadings* das variáveis e dos *scores* das observações. A figura 10, por sua vez, consiste na representação gráfica das 2 primeiras componentes, F1 e F2 resultantes da PCA.

Tabela 12 – Loadings das variáveis, R_{α_d} dos descritores do perfil aromático das cervejas, relativamente às três componentes obtidas por PCA. A negrito estão assinalados os loadings cujo valor é igual ou superior a 0,6.

	F1	F2	F3
Ácido	0,6	0,3	0,7
Açúcar mascavado	-0,8	-0,4	0,4
Alcoólico	0,6	-0,7	-0,4
Alho	0,5	0,4	0,8
Âmbar	0,5	0,4	0,8
Ameixa	-0,8	-0,4	0,4
Amendoim	0,5	0,4	0,8
Ananás	0,4	0,6	-0,2
Bagas	-0,3	0,7	-0,5
Banana	0,9	-0,1	0,0
Brandy	0,9	0,1	0,2
Cacau	0,7	-0,5	-0,3
Caril	0,5	0,4	0,8
Cebola	0,6	-0,7	-0,4
Cedro	0,5	0,4	0,8
Cereja	0,5	-0,1	-0,5
Ceroso	0,6	-0,1	-0,4
Cítrico	-0,4	0,7	-0,4
Coco	0,1	0,3	0,9
Coentros	-0,4	0,7	-0,4
Cogumelos	0,0	0,6	-0,3
Cola	0,8	-0,3	-0,2
Conhaque	0,5	-0,1	-0,4
Cremoso	0,0	0,6	-0,3
Damasco	0,0	0,6	-0,3
Doce	-0,8	-0,5	0,4
Especiarias	0,5	0,4	0,8
Etéreo	0,5	-0,6	-0,4
Fermentado	0,6	-0,7	-0,2
Floral	-0,8	-0,4	0,4
Framboesa	-0,8	-0,4	0,4
Fresco	0,5	0,4	0,7
Frutado	-0,8	-0,5	0,4
Gordura	0,0	0,6	-0,3
Green	0,4	0,7	-0,2
Herbáceo	0,5	-0,1	-0,5
Lácteo	0,0	0,6	-0,3
Laranja	-0,4	0,7	-0,5
Lavanda	-0,4	0,7	-0,4
Levedura	0,6	-0,2	-0,3
Lilás	0,1	-0,4	-0,4
Limão	-0,4	0,7	-0,4
Maçã	-0,8	-0,5	0,4
Madeira	0,4	0,6	0,6
Magnólia	-0,3	0,7	-0,5
Malte	0,6	-0,7	-0,4
Manteiga	-0,8	-0,4	0,4
Mel	-0,8	-0,4	0,4
Metálico	0,5	0,4	0,8
Mirtilo	-0,4	0,7	-0,4

Tabela 12 – Loadings das variáveis, R_{α_d} dos descritores do perfil aromático das cervejas, relativamente às três componentes obtidas por PCA. A negrito estão assinalados os loadings cujo valor é igual ou superior a 0,6. (cont.)

	F1	F2	F3
<i>Mofo</i>	0,0	0,6	-0,3
<i>Morango</i>	-0,3	0,7	-0,5
<i>Neroli</i>	-0,3	0,7	-0,5
<i>Nutty</i>	0,0	0,3	-0,8
<i>Óleo</i>	0,6	-0,2	-0,4
<i>Pão</i>	0,1	-0,4	-0,4
<i>Pera</i>	0,6	-0,2	-0,5
<i>Pêssego</i>	-0,8	-0,4	0,4
<i>Poeira</i>	0,6	0,3	0,7
<i>Pungente</i>	0,6	-0,6	-0,2
<i>Queijo</i>	-0,1	0,8	-0,4
<i>Queimado</i>	0,6	-0,7	-0,2
<i>Ranço</i>	0,6	0,4	0,7
<i>Relva</i>	0,6	0,4	0,7
<i>Roasted</i>	0,5	0,4	0,8
<i>Rosa</i>	-0,8	-0,4	0,4
<i>Rum</i>	0,1	0,3	-0,8
<i>Sabão</i>	0,7	-0,4	-0,2
<i>Seco</i>	0,5	0,4	0,8
<i>Semente</i>	-0,3	0,7	-0,5
<i>Tabaco</i>	0,6	-0,2	-0,3
<i>Tropical</i>	-0,3	0,7	-0,6
<i>Tutti-frutti</i>	0,4	-0,5	-0,4
<i>Uva</i>	-0,8	-0,5	0,4
<i>Vegetal</i>	0,7	0,5	0,5
<i>Vinho</i>	0,5	-0,6	-0,6
<i>Whisky</i>	0,6	-0,7	-0,4

Tabela 13 – Scores das amostras de cerveja para as três componentes resultantes da PCA. Metodologia 2 com base nos valores de R_{α_d} dos descritores do perfil aromático das cervejas.

	F1	F2	F3
Trigo	5,3	3,6	7,3
Stout	-8,6	-4,1	4,1
IPA	-3,4	6,9	-5,0
Bock	3,0	-3,5	-2,0
Amber	4,0	-5,0	-3,9
Helles	-0,3	2,0	-0,6

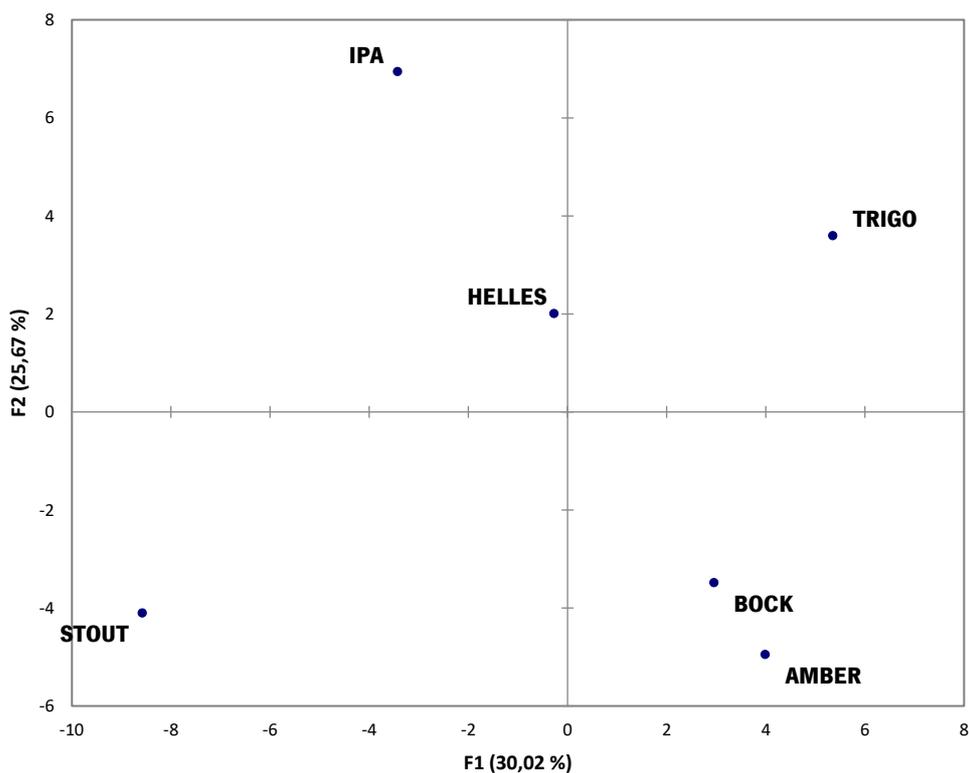


Figura 10 – Representação gráfica dos scores das cervejas para as duas primeiras componentes, F1 e F2, resultantes da PCA, com base nos valores de R_{α_d} dos descritores do perfil aromático das cervejas.

Pela análise a figura 10, é possível observar, no quadrante superior esquerdo a cerveja *IPA* relativamente bem demarcada da cerveja *Helles*, também ela posicionada nesse quadrante. Ainda na metade superior do gráfico, do lado direito, posiciona-se isolada a cerveja *Trigo*. Também isolada, mas no terceiro quadrante, situa-se a cerveja *Stout* e, por fim, no quadrante inferior direito encontram-se próximas, entre si, as cervejas *Bock* e *Amber*.

Considerando a representação das cervejas nas componentes da PCA de forma pormenorizada verifica-se que, para F1, a cerveja com score mais elevado, em módulo, é a *Stout* (-8,6) seguida pela *Trigo* (5,3). Observando graficamente, através da figura 10, é possível verificar o claro distanciamento entre estas as cervejas relativamente a F1. Assim, assume-se que são os descritores com *loadings* maiores [*banana* e *brandy* (0,9); *cola* (0,8); *açúcar mascavado*, *ameixa*, *doce*, *floral*, *framboesa*, *frutado*, *maçã*, *manteiga*, *mel*, *pêssego*, *rosa* e *uva* (-0,8); *cacau*, *sabão* e *vegetal* (0,7); *levedura*, *pungente* e *tabaco* (0,6)], os que distinguem estas cervejas. Os descritores: *açúcar mascavado*, *ameixa*, *doce*, *floral*, *framboesa*, *frutado*, *maçã*, *manteiga*, *mel*, *pêssego*, *rosa* e *uva*, apresentam correlação negativa forte (*loading* = -0,8) com a F1 e por isso serão bons descritores do aroma da *Stout*. Por outro lado, os descritores: *banana*, *brandy*, *cola*, *cacau*, *sabão*, *vegetal*, *levedura*, *pungente* e *tabaco*, por se

correlacionarem positivamente com F1 serão, possivelmente, bons descritores do aroma da *Trigo*, e também das cervejas *Bock* e *Amber*.

As cervejas IPA e Amber são as que apresentam *scores* mais distintos relativamente a F2. Ao observar a figura 10 verifica-se que, na componente F2, a cerveja *IPA* é a que mais se demarca de todas as restantes, estando a *Trigo* e a *Helles* relativamente próximas, ainda na parte positiva e a *Stout*, *Bock* e *Amber* também próximas entre si, mas na metade negativa da componente. Os descritores com *loadings* mais fortes para a F2 são: *queijo* (0,8); *bagas*, *cítrico*, *coentros*, *green*, *laranja*, *lavanda*, *limão*, *magnólia*, *mirtilo*, *morango*, *neroli*, *semente*, *tropical* (0,7); *alcoólico*, *cebola*, *fermentado*, *malte*, e *whisky* (-0,7); *ananás e madeira* (0,6); *etéreo*, *pungente* e *vinho* (-0,6). Entre estes, os descritores *queijo*, *bagas*, *cítrico*, *coentros*, *laranja*, *limão*, *green*, *lavanda*, *magnólia*, *mirtilo*, *morango*, *neroli*, *semente*, *ananás* e *madeira* apresentam caracteristicamente, na sua maioria, valores de $R\alpha_d$ superiores na cerveja *IPA*. Pelo contrário, os descritores: *alcoólico*, *cebola*, *etéreo*, *fermentado*, *malte*, *pungente*, *queimado*, *vinho* e *whisky* apresentam $R\alpha_d$ geralmente mais elevados sobretudo nas cervejas *Amber* e *Bock*.

Novamente, no sentido de visualizar graficamente as 3 componentes da análise foi construído um gráfico 3D que se apresenta na figura 11.

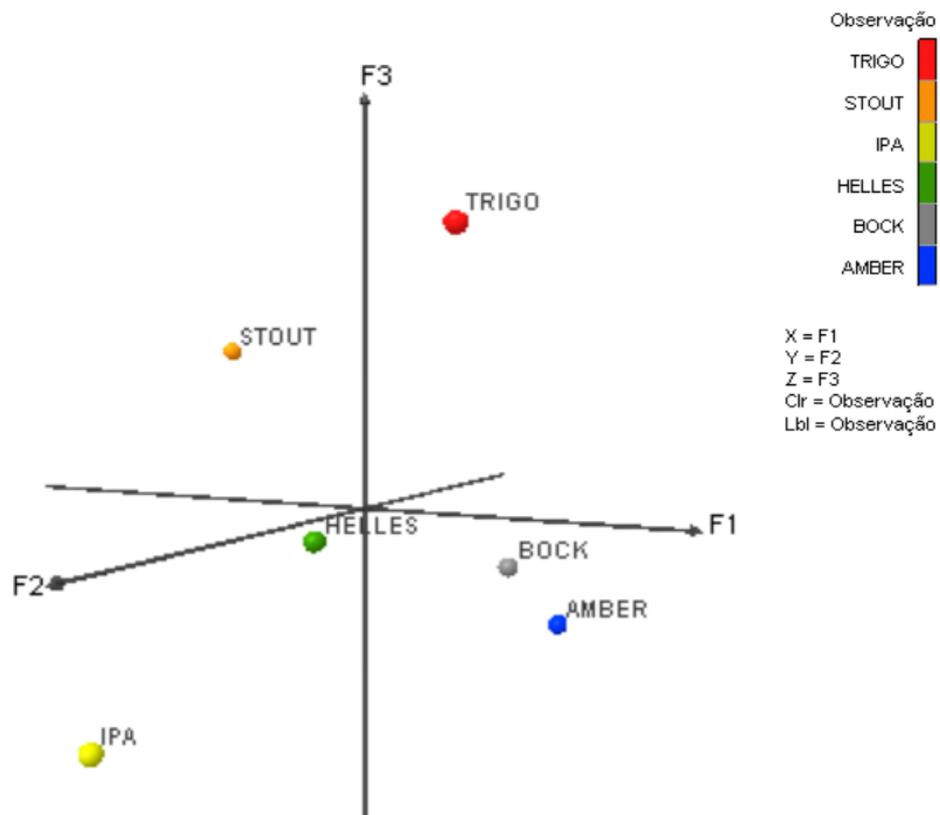


Figura 11 – Representação gráfica a 3D dos scores das cervejas para as três componentes principais, F1, F2 e F3, resultantes da PCA com base nos valores de $R\alpha_d$ dos descritores do perfil aromático das cervejas.

Através da análise da figura 11, é possível observar o posicionamento das cervejas em relação à F3, para além das restantes componentes já mencionadas. Nesse sentido, é importante constatar que as cervejas que melhor se distinguem pela componente F3 são a *Trigo* (score=7,3) e a *IPA* (score=-5,0). Os descritores com *loadings* mais elevados para esta componente são: *coco* (0,9); *alho, âmbar, amendoim, caril, cedro, especiarias, metálico, roasted* e *seco* (0,8); *nutty* (-0,8), *ácido, fresco, poeira, ranço e relva* (0,7). Entre estes, apenas os descritores *nutty* e *rum* se correlacionam negativamente com F3 e contribuem para o posicionamento da *IPA* na zona negativa desta componente. Todos os restantes descritores referidos são característicos da cerveja *Trigo*, contribuindo para o destaque desta cerveja em F3.

O posicionamento das cervejas no sistema das 3 primeiras componentes principais considerando os descritores de aroma (figura 11) não difere muito dos obtidos pela metodologia PCA considerando os compostos voláteis (figura 9). Assim, destacam-se as cervejas *IPA, Stout* e *Trigo*, mais uma vez relativamente isoladas e, novamente as cervejas *Helles, Amber* e *Bock* mais próximas. Salienta-se, contudo, nos resultados desta metodologia, uma maior proximidade entre *Amber* e *Bock* com um ligeiro afastamento da cerveja *Helles*. Este resultado não é concordante com a tipologia destas cervejas, uma vez que *Helles* e *Bock* são ambas *lagers* e categorizadas no mesmo grupo “*malty lagers*”. Seria expectável que os seus perfis de *flavour* fossem mais semelhantes entre si do que relativamente à cerveja *Amber* que é categorizada como “*malty ale*”.

Os resultados da PCA baseados nesta metodologia facilitam a descrição do *flavour* distintivo das várias cervejas. Por exemplo, considerando a cerveja *IPA*, os resultados permitem distingui-la das restantes por descritores florais (*neroli, magnólia* e *lavanda*), por alguns descritores de aroma a frutos, nomeadamente, frutos silvestres (*bagas, mirtilo, morango*), *cítricos* (*laranja, limão*) e *tropicais* (*ananás*), e ainda pelo descritor de aroma a “*queijo*” e alguns associados a *frutos secos e sementes* e *madeira*. De acordo com as *guidelines* de estilo da *Brewers Association* (Charlie Papazian et al., 2018), as *IPA's* apresentam aromas florais, cítricos, resinosos e a pinho, derivados do lúpulo. Assim, parece haver algum grau de semelhança entre os descritores obtidos para a *IPA* por esta metodologia e os descritores mais típicos deste estilo e que o carácter distintivo desta cerveja, relativamente às restantes, deriva do uso distintivo de lúpulos no seu processo produtivo.

No caso da cerveja *Trigo* as características de *flavour* a ela associadas a partir desta metodologia incluem notas de especiarias (*cariil*), *banana, coco, amendoim, ácidas*, entre outras. Tipicamente, de acordo com as características preconizadas pela *Brewers Association*, as cervejas de trigo apresentam

características frutadas e fenólicas, com aromas a banana, cravo, noz-moscada, fumado e baunilha (Charlie Papazian et al., 2018). Neste caso, apenas o descritor “*banana*” corresponde ao esperado de acordo com as diretrizes de estilo da associação de cervejeiros americana.

No caso da cerveja *Stout*, de acordo com as *guidelines*, seria expectável uma *Dry Stout* ter notas do malte torrado e notas de café a dominar o *flavour* (Charlie Papazian et al., 2018). Contudo, os descritores considerados de acordo com a metodologia adotada com maior expressão na cerveja *Stout* incluem sobretudo aromas frutados (*framboesa, ameixa, pêssego*, entre outros) a alguns como *mel* ou *açúcar mascavado*.

Assim, verifica-se que em muitos casos os descritores que emergem da análise efetuada neste estudo são diferentes dos definidos anteriormente. Algumas hipóteses podem ser levantadas para tentar explicar estas diferenças. Em primeiro lugar, questiona-se se as cervejas em questão apresentam as características clássicas dos estilos que representam, sendo que é comum os estilos apresentarem grande variedade decorrente do uso de ingredientes diferentes e de diferenças processamento. Por outro lado, como já referido anteriormente, questiona-se a validade da atribuição, com base na bibliografia, dos descritores aos compostos voláteis identificados nas cervejas. De facto, apesar de se verificar que alguns descritores obtidos pela metodologia adotada são comparáveis com os descritos pelas diretrizes para os estilos correspondentes, admite-se que os compostos voláteis presentes nas cervejas não se comportem como se estivessem isolados (devido a possíveis interações e/ou inibições de determinados aromas por outros). Neste sentido poderia ser relevante para os objetivos deste trabalho e para validar algumas das conclusões obtidas, efetuar uma análise por um painel de provadores treinados de forma a determinar o perfil aromático descritivo das cervejas em questão, comparando-o com os descritores em uso.

4.2 Avaliação de metodologias de harmonização de cervejas e alimentos

4.2.1 Metodologia de harmonização baseada na partilha de voláteis

Os resultados relativos à metodologia de harmonização proposta, baseada na partilha de compostos voláteis (M1), entre os pares de alimentos e cervejas (*Helles* ou *Stout*) apresentam-se na tabela 14, que inclui também os resultados de foodpairing® para as combinações em questão.

Tabela 14 – IR_{cp} para as combinações dos alimentos selecionados com as cervejas Helles ou Stout (M1) e respetivos resultados de foodpairing®.

	M1	foodpairing®
Helles & Brie	143,2	0,15
Helles & Camembert	106,5	0,15
Helles & Mozzarella	106,1	5,33
Helles & Chocolate negro	19,2	14,79
Helles & Morango	104,8	28,99
Helles & Pera	97,8	21,30
Helles & Ananás	102,4	21,30
Helles & Gruyère	101,1	47,93
Helles & Pêssego	11,3	37,87
Helles & Manga	100,5	2,37
<hr/>		
Stout & Manga	151,7	4,94
Stout & Brie	48,8	1,23
Stout & Camembert	11,0	0,00
Stout & Mozzarella	10,3	4,94
Stout & Chocolate negro	7,5	11,11
Stout & Morango	7,7	11,11
Stout & Ananás	6,9	2,78
Stout & Pera	5,3	1,23
Stout & Gruyère	5,7	11,11
Stout & Pêssego	2,3	4,94

No caso da harmonização da cerveja *Helles* com os alimentos considerados no estudo, os resultados de M1 demonstram que a melhor combinação seria com o queijo brie, sendo que o IR_{cp} deste par é de 143,2. Os restantes queijos considerados apresentam valores de IR_{cp} , encontrando-se, por ordem decrescente de IR_{cp} o camembert (106,5) imediatamente seguido pelo queijo mozzarella (106,1) e, por fim o gruyère (101,1). Ainda nas combinações com a *Helles*, verifica-se que, relativamente aos frutos considerados, é com o morango que o IR_{cp} é maior (104,8), apresentando valores relativamente próximos a combinação com o ananás (102,4), a manga (100,5) e a pera (97,8). A combinação *Helles-Pêssego* apresenta, contudo, um IR_{cp} (11,3).

Relativamente às harmonizações da cerveja *Stout*, verificam-se IR_{cp} mais baixos para a maior parte dos pares. Estes resultados parecem estar relacionados com a presença do composto β -damascenona que apresenta um limiar de deteção muito baixo, o que determina o domínio deste composto no perfil aromático desta cerveja, e faz com que os IR_{cp} com os alimentos que não partilham este composto sejam mais baixos. É com a manga (com a qual partilha o referido composto - β -

damascenona) que a combinação se afigura melhor, apresentando um IR_{cp} 151,7. Quanto às combinações de *Stout* com queijos, é mais uma vez com o queijo brie que o IR_{cp} é mais elevado (48,8), mantendo-se, também, a ordem de valores relativamente aos restantes: camembert (11,0), mozzarella (10,3) e gruyère (5,7). A combinação da *Stout* com frutos apresenta IR_{cp} mais baixo do que a *Helles*, pelas razões já mencionadas, sendo que a magnitude das diferenças do IR_{cp} do pêssego relativamente aos restantes frutos é atenuada [morango (7,7), ananás (6,9), pera (5,3) e pêssego (2,3)].

Relativamente à combinação das cervejas em estudo com o chocolate negro, verifica-se um maior IR_{cp} com a cerveja *Helles* (19,2) relativamente à *Stout* (7,5).

A análise da correlação dos valores de IR_{cp} com os resultados obtidos a partir do foodpairing®, apresenta-se a figura 12.

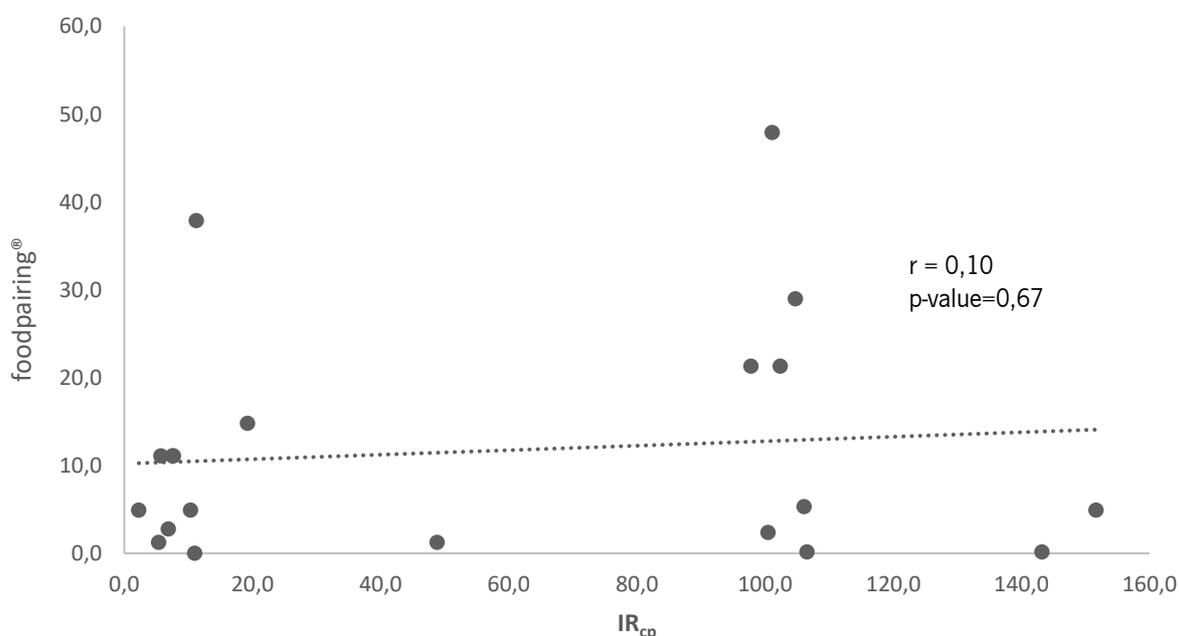


Figura 12 – Gráfico de correlação entre IR_{cp} e os resultados foodpairing® para as pares cerveja-alimento.

Pela observação do gráfico da figura 12 é possível verificar uma correlação positiva muito fraca (0,10) sem significado estatístico entre os resultados do método M1 e do foodpairing®. Atendendo aos preceitos de harmonização considerados na metodologia M1, esperar-se-ia uma correlação mais forte entre os dois métodos. A baixa associação observada pode estar relacionada com a inclusão de outro tipo de variáveis, para além da partilha de compostos voláteis e do respetivo impacto nos perfis aromáticos dos alimentos, na análise que serve de base à metodologia desenvolvida pela foodpairing®. Para além disso, é possível que os valores dos teores dos compostos voláteis dos alimentos e dos respetivos limiares de deteção presentes nas bases de dados foodpairing® sejam distintos dos da base de dados usada neste trabalho.

Outra hipótese que pode justificar em parte a pouca correlação entre os resultados destes métodos prende-se com alterações na formulação destas cervejas (*Helles* e *Sout*) que ocorreram desde a análise foodpairing®, em 2015. Assim, questiona-se a eventualidade de existirem diferenças nos compostos voláteis identificados nas cervejas nas análises cromatográficas realizadas pela foodpairing® em 2015 e no âmbito deste trabalho em 2017, decorrentes de alterações de formulação e que condicionem significativamente os perfis aromáticos dos alimentos, levando à fraca correlação entre os métodos.

Por outro lado, os resultados decorrentes da metodologia M1 parecem apresentar alguma consistência com dados da preferência de consumidores, avaliada num estudo anterior, quando se consideram os queijos brie, camembert e mozzarella, ao contrário do que acontece com o foodpairing® (figura 13).

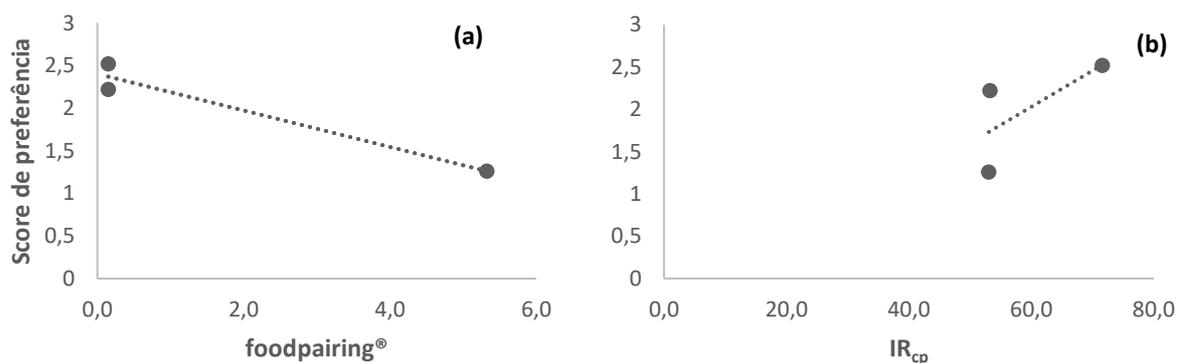


Figura 13 – Comparação entre os scores médios de preferência de consumidores (Carvalho, 2015) e os resultados decorrentes das metodologias foodpairing® (a) e M1 (b) relativamente às combinações da cerveja *Helles* com os queijos brie, camembert e mozzarella.

A figura 13 (a) revela uma tendência inversa quando comparados os resultados de foodpairing® com a preferência dos consumidores por estes pares de cerveja-alimentos. Pelo contrário, quando considerados os resultados de M1 (b), a tendência é positiva, parecendo existir alguma consistência entre os resultados obtidos por esta metodologia com a preferência dos consumidores.

Com estes resultados questiona-se a validade da metodologia foodpairing® na harmonização cerveja-alimento, e demonstra-se a necessidade de validar a metodologia desenvolvida neste trabalho recorrendo a provas de análise sensorial que envolvam mais consumidores na avaliação de um maior

número de combinações, no sentido de averiguar se a metodologia desenvolvida neste trabalho traduz a preferência dos consumidores.

4.2.2 Metodologia de harmonização baseada na partilha de aromas

Os resultados relativos à metodologia de harmonização proposta, baseada na partilha de descritores de aroma (M2) entre os pares de alimentos e cervejas (*Helles* ou *Stout*), apresentam-se na tabela 15. Esta tabela inclui também os resultados de foodpairing® para as combinações em questão.

Tabela 15 – IR_{dp} para as combinações dos alimentos selecionados com as cervejas *Helles* ou *Stout* (M2) e respetivos resultados de foodpairing®.

	M2.1	M2.2	foodpairing®
<i>Helles</i> & Brie	170,3	126,6	0,15
<i>Helles</i> & Camembert	191,9	102,3	0,15
<i>Helles</i> & Mozzarella	175,9	123,2	5,33
<i>Helles</i> & Chocolate negro	163,4	98,4	14,79
<i>Helles</i> & Morango	167,8	115,7	28,99
<i>Helles</i> & Pera	188,9	111,4	21,30
<i>Helles</i> & Ananás	164,1	115,3	21,30
<i>Helles</i> & Gruyère	169,2	116,0	47,93
<i>Helles</i> & Pêssego	167,9	114,5	37,87
<i>Helles</i> & Manga	171,1	123,0	2,37
<i>Stout</i> & Manga	189,7	171,1	4,94
<i>Stout</i> & Brie	164,0	95,8	1,23
<i>Stout</i> & Camembert	145,8	90,3	0,00
<i>Stout</i> & Mozzarella	182,1	130,7	4,94
<i>Stout</i> & Chocolate negro	146,5	99,1	11,11
<i>Stout</i> & Morango	175,8	129,1	11,11
<i>Stout</i> & Ananás	170,3	130,6	2,78
<i>Stout</i> & Pera	182,4	113,6	1,23
<i>Stout</i> & Gruyère	163,4	119,4	11,11
<i>Stout</i> & Pêssego	179,6	121,0	4,94

Considerando, em primeiro lugar, a metodologia M2.1 e os pares alimento-cerveja *Helles*, é com o queijo camembert (191,9) que a combinação apresenta um IR_{dp} mais elevado, seguida pela combinação com a pera (188,9). Os restantes pares com a cerveja *Helles* apresentam valores de IR_{dp} próximos entre si, compreendidos entre os 163,4 com o chocolate negro e os 175,9 com o queijo mozzarella. No caso dos pares com a cerveja *Stout* a melhor combinação afigura-se novamente com a manga (189,7), seguido pelas combinações com a pêra (182,4) e com o queijo mozzarella (182,1). As

harmonizações restantes apresentam IR_{dp} compreendidos entre os 145,8 com o queijo camembert e os 179,6 com o pêssego.

Por outro lado, pela metodologia M2.2, que considera apenas os descritores de aroma mais relevantes das cervejas (os objetos centrais da harmonização), relativamente aos alimentos-cerveja *Helles*, verifica-se que é com o queijo brie, queijo mozzarella e manga que o IR_{dp} é mais elevado (126,6, 123,2 e 123,0, respetivamente). As restantes harmonizações de *Helles* com os alimentos selecionados apresentam valores de IR_{dp} que variam entre os 98,4 com o chocolate negro e os 116,0 com o queijo gruyère. Os resultados das harmonizações dos alimentos com a cerveja *Stout* apresentam mais uma vez a manga como a melhor combinação (171,1).

Quanto à correlação entre M2.1 e M2.2 com os resultados de foodpairing® apresentam-se a figura 14.

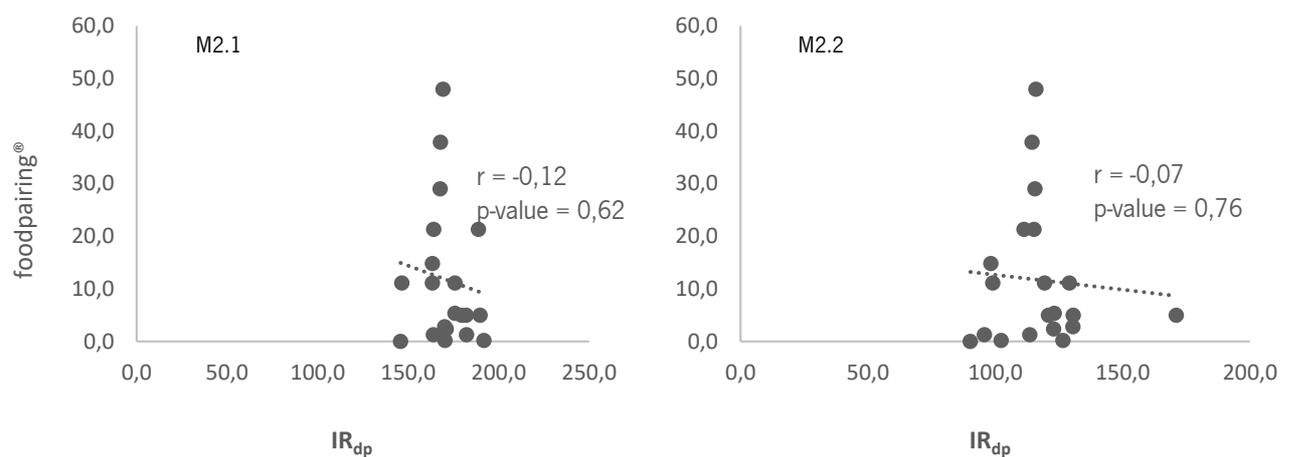


Figura 14 – Gráficos de correlação entre IR_{dp} obtidos pelos métodos M2.1 ou M2.2 e os resultados foodpairing® para os pares correspondentes

A análise da figura 14 demonstra uma correlação negativa muito fraca sem significado estatístico entre o IR_{dp} obtido com metodologia M2.1 (-0,12) ou pela metodologia M2.2 (-0,07) com o método foodpairing®.

Relativamente à comparação com os dados de preferência dos consumidores para os pares *Helles*-Brie, *Helles*-Camembert e *Helles*-Mozzarella, apresenta-se a figura 15.



Figura 15 – Comparação entre os scores médios de preferência de consumidores (Carvalho, 2015) e os resultados decorrentes das metodologias M2.1 e M2.2 relativamente às combinações da cerveja Helles com os queijos Brie, Camembert e Mozzarella.

Quando comparados os valores de IR_{dp} obtidos com a metodologia M2.1 ou M2.2 com os scores de preferência dos pares pelos consumidores, verifica-se uma aparente ausência de correlação entre o IR_{dp} de M2.1 e os scores de preferência ou uma correlação inversa entre o IR_{dp} de M2.2 e os scores de preferência, sem significado estatístico nos dois casos.

Estes resultados sugerem a falta de validade destas metodologias (M2.1 e M2.2) para definir as melhores harmonizações de alimento-cerveja. Verifica-se ainda que a seleção dos descritores de maior impacto nas cervejas não resultou em melhorias significativas nos resultados da metodologia M2.2 relativamente a M2.1.

Uma das razões que pode estar subjacente à falta de validade desta abordagem metodológica prende-se, novamente, com dificuldade em traduzir a composição da fração volátil em descritores de aroma tanto das cervejas como dos alimentos.

5. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

O trabalho realizado permitiu estabelecer um perfil dos compostos voláteis mais relevantes das diferentes cervejas da marca *Sovina*. A tradução da informação sobre a composição da fração volátil em descritores de *flavour* revelou-se desafiante, pelo que se sugere uma análise sensorial descritiva quantitativa das cervejas, recorrendo a um painel de provadores treinados, ou o recurso a novas metodologias descritivas não convencionais, mais rápidas e de menor custo, que podem ser realizadas por provadores não treinados, como técnicas de mapeamento projetivo (*Napping e Ultra-flash profiling*), metodologias de perfil livre (*Free Choice Profiling e Flash Profile*), *Check-all-that-apply* (CATA), entre outros.

Os resultados apresentados neste trabalho, relativamente à distinção entre as cervejas, tendo por base os respetivos perfis aromáticos permitem perceber que a utilização de diferentes variedades de ingredientes (maltes, lúpulos e leveduras) no processo produtivo parece condicionar a ocorrência de diferenças ao nível dos compostos voláteis presentes nas cervejas e, por conseguinte, no seu *flavour*. Os resultados associados às análises de componentes principais realizadas demonstram um posicionamento relativamente bem demarcado das várias cervejas entre si, destacando-se, sobretudo, as cervejas *IPA, Trigo e Stout*. A distinção particular destas cervejas associa-se à ocorrência de compostos únicos na fração volátil de cada uma delas, relativamente às restantes e ainda à ocorrência de compostos que, apesar de comuns com outras cervejas, apresentam valores de Ra_c superiores. Estes resultados parecem indicar que os perfis aromáticos das cervejas *Helles, Bock e Amber* são relativamente semelhantes.

Relativamente às metodologias de harmonização propostas e através da validação usada no contexto deste trabalho (comparação com resultados de foodpairing®), bem como da comparação com dados conhecidos da preferência de consumidores, parece ser mais adequada a adoção da metodologia que estabelece a intensidade da harmonização gastronómica considerando a informação sobre o impacto relativo dos compostos voláteis partilhados (IR_{cp}) pelo par cervejas-alimento. Contudo, acredita-se ser importante proceder à validação desta metodologia através de provas sensoriais com painéis de consumidores que, numa primeira fase, provarão pares cerveja-alimento com IR_{cp} de diferentes magnitudes.

Poderá ainda ser pertinente considerar não só a fração aromática dos alimentos como fator relevante nas harmonizações, mas também as características de sabor e textura. De acordo com o método de foodpairing® de Bernard Lahousse estas são responsáveis por 20% da experiência sensorial do consumo

de alimentos, para além dos 80% da responsabilidade da complementaridade de aromas (Lahousse, 2016). Assim, neste sentido, considerar o equilíbrio de contrastes entre sensações de textura e de sabor poderá melhorar a previsão da intensidade das harmonizações.

Por fim, salienta-se o carácter inovador e o potencial desta temática. Considera-se que as metodologias propostas são um importante contributo para a construção de uma ferramenta de descrição do perfil de *flavour* e harmonização gastronómica que pode ser implementada ao nível da indústria cervejeira para o desenvolvimento e comunicação dos seus produtos de forma a potenciar a satisfação de consumidores e parceiros.

BIBLIOGRAFIA

- Aberl, A., & Coelhan, M. (2012). Determination of Volatile Compounds in Different Hop Varieties by Headspace-Trap GC/MS In Comparison with Conventional Hop Essential Oil Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(11), 2785-2792.
- Ahn, Y.-Y., Ahnert, S. E., Bagrow, J. P., & Barabási, A.-L. (2011). Flavor network and the principles of food pairing. *Scientific reports*, 1, 196.
- Alvim, R., Borges, G., Machado, A., Gomes, F., & Badotti, F. (2014). *Identificação de compostos voláteis em cervejas comerciais e especiais utilizando SPME e GC-MS*. Paper presented at the Congresso Brasileiro de Química.
- Aquilani, B., Laureti, T., Poponi, S., & Secondi, L. (2015). Beer choice and consumption determinants when craft beers are tasted: An exploratory study of consumer preferences. *Food Quality and Preference*, 41(Supplement C), 214-224.
- Ascher, B. (2012). Global beer: The road to monopoly *American Antitrust Institute, Washington, DC*.
- Auvray, M., & Spence, C. (2008). The multisensory perception of flavor. *Consciousness and Cognition*, 17(3), 1016-1031.
- Barth, R. (2013). *The Chemistry of Beer - The Science in the Suds*: John Wiley & Sons, Inc.
- Berkhout, B., Bertling, L., Bleeker, Y., (EY), W. d. W., Kruis, G., Stokkel, R., & Theuws, R.-j. (2013). The contribution made by beer to the European Economy: The Brewers of Europe.
- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A., & Stevens, R. (2004). *Brewing - Science and practice*: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- Bufe, B., & Meyerhof, W. (2006). The human perception of taste compounds. In A. Voilley & P. Etiévant (Eds.), *Flavour in food* (pp. 3-35): Woodhead Publishing Limited and CRC Press.
- Burdock, G. A. (2010). *Fenaroli's handbook of flavor ingredients* (6th ed.): CRC Press, New York.
- Campinho, J. (2014). *Similaridade do perfil de compostos voláteis dos ingredientes: Influência na escolha de bombons de chocolate*. (Tese de licenciatura. Trabalho de Invesigação), Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, Catálogo FCNAUP.
- Carvalho, A. C. (2015). *Aplicação e utilidade de bases de dados de compostos voláteis de alimentos em investigação e desenvolvimento*. (Tese de licenciatura. Trabalho de investigação), Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto, Catálogo FCNAUP
- Charlie Papazian, Paul Gatza, Chuck Skyeck, & Swersey, C. (2018). *Brewers Association Beer Style Guidelines*: Brewers Association (BA).
- Clark, J. E. (2008). Taste and flavour: their importance in food choice and acceptance. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57(4), 639-643.
- Donadini, G., Fumi, M. D., & Lambri, M. (2013). A preliminary study investigating consumer preference for cheese and beer pairings. *Food Quality and Preference*, 30(2), 217-228.
- Donadini, G., Spigno, G., Fumi, M. D., & Pastori, R. (2008). Evaluation of ideal everyday Italian food and beer pairings with regular consumers and food and beverage experts. *Journal of the Institute of Brewing*, 114(4), 329-342.
- Dredge, M. (2014). *Beer and Food - Bringing together the finest food and the best craft beers* (C. West Ed. 1 ed.): Dog 'n' Bone Books.
- Europe, T. B. o. (2016). *The Contribution made by Beer to the European Economy - Portugal: The Brewers of Europe*.
- Fisher, C., & Scott, T. R. (1997). *Food flavours: biology and chemistry*. Royal Society of chemistry.
- Foodpairing®. The Science behind Foodpairing®. Retrieved 15 novembro, 2017, from <https://www.foodpairing.com/en/science-behind>
- Galanty, H. (2016). Beer Flavor Map Revolutionizes Beer Terminology. from <https://www.craftbeer.com/editors-picks/beer-flavor-map-revolutionizes-beer-terminology>

- Garneau, N., & Barr, L. (2016). *The Beer Flavor Map: A new tool for bringing modern science to flavor analysis*. Paper presented at the World Brewing Congress, Denver, Colorado, USA.
- George, R. R. (2015). *The Umami Factor - Full-Spectrum Fermentation for the 21st Century*. Schiffer Publishing, Ltd.
- Hao, J., Dong, J., Yin, H., Yan, P., Ting, P. L., Li, Q., . . . Li, M. (2014). Optimum method of analyzing hop derived aroma compounds in beer by headspace solid-phase microextraction (SPME) with GC/MS and their evolutions during chinese lager brewing process. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 72(4), 261-270.
- Harrington, R. J. (2005). The wine and food pairing process: Using culinary and sensory perspectives. *Journal of Culinary Science & Technology*, 4(1), 101-112.
- Harrington, R. J. (2007). *Food and wine pairing: A sensory experience*. John Wiley & Sons.
- Harrington, R. J., Miszczak, D. C., & Ottenbacher, M. C. (2008). The impact of beer type, pizza spiciness and gender on match perceptions. *PASOS. Revista de Turismo y Patrimonio Cultural*, 6(2), 173-188.
- Holley, A. (2006). Processing information about flavour. In A. Voilley & P. Etievant (Eds.), *Flavour in food* (pp. 36-61): Woodhead Publishing Limited and CRC Press.
- Hughes, P. (2009). Beer flavor. In C. W. Bamforth, I. Russell & G. G. Stewart (Eds.), *Beer A Quality Perspective* (pp. 61-83). London: Academic Press.
- Keast, R. S., & Costanzo, A. (2015). Is fat the sixth taste primary? Evidence and implications. *Flavour*, 4(1), 5.
- Keith, E. S., & Powers, J. J. (1968). Determination of flavor threshold levels and sub-threshold, additive, and concentration effects. *Journal of Food Science*, 33(2), 213-218.
- Key Facts and Figures 2015 - Portugal. Retrieved 9 novembro, 2017, from https://www.brewersofeurope.org/site/countries/figures.php?doc_id=660
- Kort, M., Nijssen, B., van Ingen-Visscher, K., & Donders, J. (2010). *Food pairing from the perspective of the 'volatile compounds in food' database*. Paper presented at the Expression of Multidisciplinary Flavour Science: Proceedings of the 12th Weurman Symposium, Interlaken, Switzerland.
- Lahousse, B. (2016). How to create a well-balanced recipe. Retrieved from <http://blog.foodpairing.com/2016/05/creating-recipes-using-foodpairing/>
- Laing, D. G., & Jinks, A. (1996). Flavour perception mechanisms. *Trends in Food Science & Technology*, 7(12), 387-389.
- Lermusieau, G., & Collin, S. (2003). Volatile Sulfur Compounds in Hops and Residual Concentrations in Beer - A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 61(3), 109-113.
- Meilgaard, M. C. (1982). Prediction of flavor differences between beers from their chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(6), 1009-1017.
- Mosher, R. (2009). *Tasting Beer: An Insider's Guide to the World's Greatest Drink*. Storey Publishing.
- Murray, D. W., & O'Neill, M. A. (2012). Craft beer: Penetrating a niche market. *British Food Journal*, 114(7), 899-909.
- Noble, A. C. (1996). Taste-aroma interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 7(12), 439-444.
- Olaniran, A. O., Hiralal, L., Mokoena, M. P., & Pillay, B. (2017). Flavour-active volatile compounds in beer: production, regulation and control. *Journal of the Institute of Brewing*, 123(1), 13-23.
- Oliver, G. (2010). *The Brewmaster's Table: Discovering the Pleasures of Real Beer with Real Food*. Harper Collins.
- Oliver, G., & Colicchio, T. (2011). *Craft Brewing The Oxford companion to beer* (1 ed.): Oxford University Press.
- Papazian, C. (2006). Beer Styles: Their Origins and Classification. In F. G. Priest & G. G. Stewart (Eds.), *Handbook of Brewing* (2 ed., pp. 38-75): CRC Press and Taylor & Francis Group.
- Pettigrew, S., & Charters, S. (2006). Consumers' expectations of food and alcohol pairing. *British Food Journal*, 108(3), 169-180.
- Pickett, J., Coates, J., Peppard, T., & Sharpe, F. (1976). Chemical characterization of differences between ales and lagers. *Journal of the Institute of Brewing*, 82(4), 233-238.

- Pinho, O., Ferreira, I. M., & Santos, L. H. (2006). Method optimization by solid-phase microextraction in combination with gas chromatography with mass spectrometry for analysis of beer volatile fraction. *Journal of Chromatography A*, *1121*(2), 145-153.
- Prescott, J. (2015). Multisensory processes in flavour perception and their influence on food choice. *Current Opinion in Food Science*, *3*(Supplement C), 47-52.
- Roper, S. D. (2013). Taste buds as peripheral chemosensory processors. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *24*(1), 71-79.
- Saunders, L. (2007). *The Best of American Beer and Food: pairing & cooking with craft beer*. Ray Daniels.
- Schultz, S. (2012). *Beer, food, and flavor: a guide to tasting, pairing, and the culture of craft beer*. Skyhorse Publishing Inc.
- Taylor, A. J., & Linforth, R. S. (2009). *Food flavour technology*. John Wiley & Sons.
- What is Craft Beer? Retrieved 10 novembro, 2017, from <https://www.craftbeer.com/beer/what-is-craft-beer>

ANEXO I – VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NAS AMOSTRAS DE CERVEJA

	<i>Trigo</i>		<i>Stout</i>		<i>IPA</i>		<i>Bock</i>		<i>Amber</i>		<i>Helles</i>	
	Área	% NIST	Área	% NIST	Área	% NIST	Área	% NIST	Área	% NIST	Área	% NIST
Ethanol	0	-	0	-	0	-	2,8E+09	40,7	0	-	0	-
Ethyl acetate	9,7E+07	97,5	0	-	1,4E+08	98,0	2,4E+08	98,4	1,5E+08	97,7	0	-
1-Butanol, 3-methyl-	1,3E+09	67,4	9,7E+08	68,5	6,9E+08	71,5	2,6E+09	64,7	2,1E+09	69,8	8,3E+08	74,3
1-Butanol, 2-methyl-, (S)-	3,9E+08	64,3	3,2E+08	72,5	2,8E+08	65,3	9,9E+08	49,4	9,8E+08	62,1	3,5E+08	71,5
1-Butanol, 3-methyl-, acetate	5,9E+08	81,0	0	-	2,2E+08	81,0	3,8E+08	82	1E+09	82,1	1,9E+08	80
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	0	-	0	-	0	-	0	-	8,8E+07	93,6	0	-
Bicyclo[4.2.0] octa-1,3,5-triene	0	-	1,1E+08	41,1	1,7E+08	39,7	0	-	0	-	0	-
Oxalic Acid	1,82E+10	48,3	2,7E+10	37	2,6E+10	39,5	2,8E+10	36,3	3,1E+10	46,9	1,9E+10	54,3
Hexanoic acid, 4-methylene-,methyl ester	0	-	0	-	4,9E+07	21,0	0	-	0	-	0	-
Propanoic acid, 2-methyl-,2methylbutyl ester	0	-	0	-	3,8E+07	50,0	0	-	0	-	0	-
Hexanoic acid	2,5E+08	73,4	0	-	7,0E+07	70,1	0	-	0	-	0	-
Hexanoic acid, ethyl ester	3,4E+08	81,9	1,3E+08	81,4	1,9E+08	82,1	2,5E+08	81,3	2,8E+08	80,8	1,9E+08	82,1
Linalool	7,8E+07	70	8,9E+07	64,4	4,4E+08	73,0	0	-	9,7E+07	64,3	8,2E+07	67,1
Heptanoic acid, ethyl ester	0	-	0	-	5,5E+07	87,5	0	-	0	-	0	-
Phenylethyl alcohol	1,3E+09	74,4	1,6E+09	78,2	1,7E+09	77,6	1,2E+09	74,8	2,8E+09	77,1	1,1E+09	73,7
L- α -Terpineol	0	-	2,6E+07	26,6	5,7E+07	31,9	0	-	0	-	0	-
Arsenous acid, tris(trimethylsilyl) ester	0	-	0	-	0	-	1,4E+08	42,6	0	-	0	-
Octanoic acid	3,5E+09	91	6,6E+08	89,9	1,5E+09	89,3	1,6E+09	87,8	1,3E+09	89,7	1,7E+09	89,7
Octanoic acid, ethyl ester	2,6E+09	91,8	1E+09	91,6	5,6E+09	70,2	4,7E+09	-	5,5E+07	91	8,7E+09	91,6
2,6-Octadien-1-ol,3,7-dimethyl-, (Z)-	0	-	0	-	2,0E+08	45,8	0	-	0	-	0	-
2-undecanone	0	-	0	-	7,8E+07	90,5	0	-	0	-	0	-
1-Decanol	0	-	0	-	0	-	0	-	5,6E+07	14	0	-
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	9,6E+08	58,2	6,6E+07	55	7,2E+08	60,4	3,8E+08	58,9	2,2E+09	56,7	4,5E+08	63,3
2-Undecanol	0	-	2,8E+07	40,1	4,1E+07	46,8	0	-	0	-	0	-
Nonanoic acid, ethyl ester	0	-	0	-	1,3E+08	85,4	0	-	1,1E+08	83,1	8,3E+07	82
2(3H)-Furanone, dihydro-5-pentyl-	0	-	7,4E+07	69,5	0	-	0	-	0	-	0	-

	<i>Trigo</i>		<i>Stout</i>		<i>IPA</i>		<i>Bock</i>		<i>Amber</i>		<i>Helles</i>	
	Área	% NIST	Área	% NIST	Área	% NIST	Área	% NIST	Área	% NIST	Área	% NIST
2-Methoxy-4-vinylphenol	3,7E+08	73,3	0	-	0	-	0	-	0	-	5E+07	51,8
Oxime-, methoxy-phenyl_	5,2E+07	50,9	4,2E+07	57,9	1,2E+08	58,8	1,9E+08	61,5	1,4E+08	58,6	0	-
Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	0	-	5E+07	28,5	0	-	0	-	0	-	0	-
Ethyl 9-decenoate	0	-	0	-	6,1E+08	44,9	8,2E+07	36,4	0	-	2,3E+08	58,1
n-Decanoic acid	3,4E+09	85,7	3,1E+08	82,6	3,7E+08	81,0	7,4E+08	82,9	5,8E+08	80,9	7,7E+08	81,6
Decanoic acid, ethyl ester	4,4E+09	83,6	1,2E+09	85,6	3,5E+09	83,1	8,8E+09	83,9	9,7E+09	83,8	1,2E+10	84,1
Ethyl trans-4-decenoate	0	-	7,6E+07	41,7	1,9E+08	42,9	0	-	0	-	3,6E+07	42,7
Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	2,1E+07	63	4,7E+07	53,7	8,5E+07	77,5	5,9E+07	75,3	9,3E+07	78,1	1,6E+08	76,9
2-Methylbutyl octanoate	0	-	0	-	3,6E+07	65,6	2,7E+07	51,6	5,5E+07	64	7,4E+07	61,4
2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-	0	-	4,2E+07	46,1	0	-	0	-	0	-	0	-
Aromadendrene oxide-(2)	3,2E+07	8,8	0	9,78	0	-	0	-	0	-	0	-
Caryophyllene	0	-	3,6E+07	4,41	0	-	0	-	0	-	0	-
Caryophyllene oxide	0	-	0	-	9,1E+07	10,3	3,4E+07	11	3,9E+07	11,3	5,5E+07	10,5
Aromadendrene oxide-(2)	0	8,8	8,2E+07	9,78	0	-	0	-	0	-	0	-
Dodecanoic acid	8,1E+07	78,4	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Humulene	0	-	1,3E+08	60,9	6,5E+07	63,9	0	-	0	-	0	-
Dodecanoic acid, ethyl ester	4,5E+08	70,8	2,3E+08	65,3	2,4E+08	70,0	1,1E+09	71,7	7,9E+08	70,5	6,5E+08	69,6
Cubanol	0	-	1,6E+07	15,2	0	-	0	-	0	-	0	-
1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	2,2E+07	38,5	5,6E+07	46,6	8,5E+07	47,3	3,6E+07	30,1	4,6E+07	35,5	5,3E+07	54,1
Pentadecanoic acid, 3-methylbutyl ester	0	-	0	-	0	-	6,5E+07	83,5	5,6E+07	79,6	9,8E+07	82,8
3,7-Cycloundecadien-1-ol, 1,5,5,8-tetramethyl-	0	-	4,9E+07	22,4	0	-	0	-	0	-	0	-
Tetradecanoic acid, ethyl ester	2,5E+07	42	1,9E+07	28,5	0	-	4,6E+07	57,1	2,7E+07	52,2	0	-
8,11,14-Eicosatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	0	-	8,7E+07	9,68	5,1E+07	8,5	0	-	0	-	0	-
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid	0	-	5,7E+07	10	0	-	0	-	0	-	0	-