

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE – UNICENTRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ

GABRIELA DALBERTO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E SENSORIAL DE
CERVEJA PILSEN DE BAIXO TEOR ALCOÓLICO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

GUARAPUAVA

2020

GABRIELA DALBERTO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E SENSORIAL DE
CERVEJA PILSEN DE BAIXO TEOR ALCOÓLICO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Aplicada, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Elisa Aguayo da Rosa

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Roberto da Rosa

GUARAPUAVA

2020

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Cedeteg

D137d Dalberto, Gabriela
Desenvolvimento e caracterização química e sensorial de cerveja pilsen de baixo teor alcoólico / Gabriela Dalberto. -- Guarapuava, 2020.
xi, 91 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, área de concentração em Química Orgânica, 2020.

Orientadora: Elisa Aguayo da Rosa
Coorientador: Marcos Roberto da Rosa
Banca examinadora: Luciana de Boer Pinheiro de Souza, Maria Lurdes Felsner

Bibliografia

1. Química. 2. Cerveja. 3. Baixo teor alcoólico. 4. Brassagem a frio. 5. Análise sensorial. 6 Planejamento fatorial. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Química.


CDD 540

GABRIELA DALBERTO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E SENSORIAL DE
CERVEJA PILSEN DE BAIXO TEOR ALCOÓLICO**

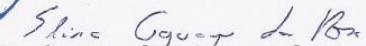
Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 21 de fevereiro de 2020.


Prof.^a. Dr.^a. Maria Lurdes Felsner - UNICENTRO


Prof.^a. Dr.^a. Luciana de Boer Pinheiro de Souza - UEPG


Prof. Dr. Marcos Roberto da Rosa - Co-orientador


Prof.^a. Dr.^a. Elisa Aguayo da Rosa

Orientadora

GUARAPUAVA-PR

Dedico este trabalho aos meus pais, Luciane e Eristeu, pelo amor e apoio incondicionais entregues a mim todos os dias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus familiares, que sempre me apoiaram e acreditaram na realização deste sonho. Em especial ao meu irmão Henrique, minha mãe Luciane e ao meu pai Eristeu.

Ao João Paulo, pelo amor e dedicação a mim depositados.

Aos colegas do laboratório TECNORG e aos colegas de mestrado, pelos ensinamentos e pela companhia do convívio. A UNICENTRO e aos professores pelo suporte e ensinamentos.

Ao professor Marcos e a professora Elisa, pela orientação e incentivo na busca por conhecimento.

A cada pessoa que tenha contribuído de alguma forma, o meu agradecimento.

RESUMO

A cerveja é uma bebida alcoólica produzida pela fermentação do mosto de cereais maltados, onde o conteúdo de álcool está situado, em média, entre 4,5 e 5,5 °GL. Uma subdivisão consiste na cerveja de baixo teor alcoólico, que, de acordo com a legislação brasileira, deve apresentar um teor entre 0,5 e 2,5 °GL. A cerveja é descrita como uma bebida sensível, portanto, qualquer modificação irá ocasionar alterações em seu perfil sensorial. Desta forma, a redução de etanol irá influenciar significativamente na qualidade da bebida. Neste estudo foram realizadas a preparação a caracterização físico-química e cromatográfica de cervejas de baixo teor alcoólico a fim de se avaliar possíveis mudanças nos parâmetros químicos e sensoriais quando se tem a diminuição do conteúdo de álcool. Para se obter cervejas de baixa graduação alcoólica realizou-se modificações em etapas do processo produtivo, em relação a quantidade e processamento do malte, temperatura de brassagem e tipo de levedura, e aplicou-se um planejamento fatorial fracionário em dois níveis a fim de se avaliar a influência dessas variáveis. A análise de grau alcoólico apresentou resultados de 4,93 °GL na cerveja padrão e 0,97 a 2,35 °GL nas amostras com baixa graduação alcoólica, e a cor variou entre 6 e 8 EBC, correspondendo a uma coloração mais clara do que uma cerveja pilsen tradicional. A determinação cromatográfica dos açúcares fermentáveis no mosto indicou que as mudanças realizadas no processo produtivo resultaram em uma concentração maior de açúcares não fermentáveis, propiciando a obtenção de um baixo teor de álcool. Para avaliar a aceitação por parte dos consumidores, fez-se uma análise sensorial, que apontou que 67% dos participantes tiveram preferência pela cerveja de baixo teor alcoólico e 33% optaram pela cerveja tradicional, mostrando que a diminuição da quantidade de álcool resultou em características sensoriais superiores as da tradicional.

PALAVRAS-CHAVE: cerveja, baixo teor alcoólico, brassagem a frio, análise sensorial, planejamento fatorial.

ABSTRACT

Beer is an alcoholic beverage produced by the fermentation of malted cereal must, where the alcohol content is, on average, between 4.5 and 5.5 °GL. A subdivision consists of beer with low alcohol content, which, according to Brazilian legislation, must have a content between 0.5 and 2.5 °GL. Beer is described as a sensitive drink, so any modification will result in changes in its sensory profile. Thus, ethanol removal will significantly influence the quality of the drink. In this study, the development and physicochemical and chromatographic characterization of low alcohol beers were performed in order to assess possible changes in the chemical and sensory parameters when there is a decrease in the alcohol content. In order to obtain low-alcohol beers, changes were made in stages of the production process, in relation to the quantity and processing of the malt, brewing temperature and type of yeast and fractional factorial design at two levels was applied with the purpose to assess the influence of these variables. The analysis of alcoholic degree showed results of 4.93 °GL in the standard beer and 0.97 to 2.35 °GL in the samples with low alcohol content, and the color varied between 6 and 8 EBC, corresponding to a lighter color than a traditional lager beer. The chromatographic determination of fermentable sugars in the must indicated that the changes made in the production process resulted in a higher concentration of non-fermentable sugars, providing a low alcohol content. To assess consumer acceptance, a sensory analysis was performed, which showed that 67% of the participants had a preference for low-alcohol beer and 33% opted for traditional beer, showing that the decrease in the amount of alcohol resulted in better characteristics than traditional beer.

KEYWORDS: beer, low alcohol content, cold mash, sensory analysis, factorial design.

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1. | INTRODUÇÃO E OBJETIVOS | 14 |
| 1.1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 1.2 | OBJETIVOS | 16 |
| 1.2.1 | Objetivo geral | 16 |
| 1.2.2 | Objetivos específicos | 16 |
| 1.3 | REFERÊNCIAS..... | 17 |
| 2. | REFERENCIAL TEÓRICO..... | 19 |
| 2.1 | DEFINIÇÃO E HISTÓRICO | 19 |
| 2.2 | CLASSIFICAÇÃO | 20 |
| 2.3 | ESTILOS | 21 |
| 2.3.1 | Cerveja Pilsen | 22 |
| 2.4 | MATÉRIAS PRIMAS | 22 |
| 2.4.1 | Água | 23 |
| 2.4.2 | Malte | 24 |
| 2.4.3 | Lúpulo | 25 |
| 2.4.4 | Levedura..... | 26 |
| 2.5 | PRODUÇÃO DA CERVEJA | 27 |
| 2.5.1 | Brassagem | 28 |
| 2.5.2 | Fervura | 29 |
| 2.5.3 | Fermentação | 29 |
| 2.5.4 | Maturação..... | 30 |
| 2.6 | CONTROLE DE QUALIDADE | 30 |
| 2.7 | CERVEJA DE BAIXO TEOR ALCOÓLICO | 31 |
| 2.7.1 | Definição e breve histórico | 31 |
| 2.7.2 | Expansão | 31 |
| 2.7.3 | Formas de produção | 32 |
| 2.7.4 | Brassagem a frio..... | 33 |
| 2.8 | REFERÊNCIAS..... | 34 |
| 3. | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 39 |
| 3.1 | MATÉRIAS PRIMAS | 39 |
| 3.2 | PRODUÇÃO DA CERVEJA PILSEN PADRÃO | 39 |
| 3.3 | PRODUÇÃO DAS CERVEJAS DE BAIXO TEOR ALCOÓLICO | 39 |
| 3.4 | REFERÊNCIAS..... | 41 |
| 4. | CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA | 43 |
| 4.1 | Materiais e métodos | 43 |
| 4.1.1 | pH..... | 43 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1.2 | Acidez total | 43 |
| 4.1.3 | Teor de sólidos solúveis | 43 |
| 4.1.4 | Grau alcoólico | 43 |
| 4.1.5 | Amargor | 43 |
| 4.1.6 | Cor..... | 44 |
| 4.2 | PLANEJAMENTO FATORIAL | 45 |
| 4.3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 46 |
| 4.3.1 | pH..... | 47 |
| 4.3.2 | Acidez total | 49 |
| 4.3.3 | Teor de sólidos solúveis | 50 |
| 4.3.4 | Grau alcoólico | 54 |
| 4.3.5 | Amargor | 58 |
| 4.3.6 | Cor..... | 60 |
| 4.4 | CONCLUSÕES PARCIAIS | 62 |
| 4.5 | REFERÊNCIAS..... | 62 |
| 5. | CARACTERIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA | 65 |
| 5.1 | DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES POR CLAE-IR | 65 |
| 5.1.1 | Materiais..... | 65 |
| 5.1.2 | Condições cromatográficas | 65 |
| 5.2 | DETERMINAÇÃO DE HMF POR CLAE-UV | 65 |
| 5.2.1 | Materiais..... | 65 |
| 5.2.2 | Condições cromatográficas | 65 |
| 5.3 | REGRESSÃO LINEAR | 66 |
| 5.4 | LIMITE DE DETECÇÃO (LD) E DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)..... | 66 |
| 5.5 | ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS | 66 |
| 5.6 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 66 |
| 5.6.1 | Determinação de açúcares por CLAE-IR..... | 66 |
| 5.6.2 | Determinação de HMF por CLAE-UV | 73 |
| 5.7 | CONCLUSÕES PARCIAIS | 76 |
| 5.8 | REFERÊNCIAS..... | 77 |
| 6. | ANÁLISE SENSORIAL | 79 |
| 6.1 | MATERIAIS E MÉTODOS | 79 |
| 6.2 | ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS | 79 |
| 6.3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 80 |
| 6.4 | CONCLUSÕES PARCIAIS | 86 |
| 6.5 | REFERÊNCIAS..... | 86 |
| 7. | CONCLUSÃO..... | 88 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Grãos de malte e planta de cevada..... | 24 |
| Figura 2. Lúpulo na forma de flores e de pellets..... | 26 |
| Figura 3. Processo de produção da cerveja. | 27 |
| Figura 4. Consumo de bebidas com baixo teor alcoólico..... | 32 |
| Figura 5. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao parâmetro físico-químico de pH das amostras de cerveja.. | 48 |
| Figura 6. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao parâmetro físico-químico de acidez total das amostras de cerveja..... | 50 |
| Figura 7. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao teor de sólidos solúveis das amostras de cerveja. | 52 |
| Figura 8. Gráficos dos efeitos de interação entre temperatura de brassagem e concentração (a), temperatura de brassagem e processamento do malte (b) e processamento do malte e concentração (c) para o teor de sólidos solúveis. | 53 |
| Figura 9. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao grau alcoólico das amostras de cerveja. | 55 |
| Figura 10. Gráficos dos efeitos de interação entre processamento do malte e concentração (a), temperatura de brassagem e concentração (b) e temperatura de brassagem e processamento do malte (c) para o grau alcoólico. | 57 |
| Figura 11. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao amargor das amostras de cerveja..... | 59 |
| Figura 12. Gráfico do efeito de interação entre processamento e concentração de malte para o parâmetro de amargor..... | 59 |
| Figura 13. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao parâmetro físico-químico de cor das amostras de cerveja. | 61 |
| Figura 14. Cromatograma obtido por CLAE-IR para a construção da curva de calibração dos açúcares frutose, glicose, sacarose e maltose. | 68 |
| Figura 15. Cromatogramas obtidos por CLAE-IR para a quantificação de açúcares no mosto da cerveja padrão (a) e das cervejas de baixo teor alcoólico: QMP15 (b), QMP20 (c), FMP15 (d), FMP20 (e), FMO15 (f), FMO20 (g). | 69 |
| Figura 16. Cromatogramas obtidos por CLAE-IR para a quantificação de açúcares na cerveja padrão (a) e nas cervejas de baixo teor alcoólico: QMP15 (b), QMP20 (c), FMP15 (d), FMP20 (e), FMO15 (f), FMO20 (g)..... | 70 |
| Figura 17. Cromatograma obtido por CLAE-UV para a construção da curva de calibração do HMF. | 74 |
| Figura 18. Cromatogramas obtidos para a quantificação de HMF na amostra de cerveja padrão (a) e nas amostras de cerveja de baixo teor alcoólico: QMP15 (b), QMP20 (c), FMP15 (d), FMP20 (e), FMO15 (f), FMO20 (g). | 75 |
| Figura 19. Amostras utilizadas para a análise sensorial: (a) cerveja padrão, (b) QMP20, (c) FMP20 e (d) FMO20. | 80 |
| Figura 20. Porcentagem de participantes divididos por faixa etária e por gênero. | 81 |
| Figura 21. Frequência de consumo para as cervejas avaliadas em porcentagem de participantes..... | 83 |
| Figura 22. Qualidade das cervejas avaliadas em porcentagem de participantes. | 84 |
| Figura 23. Preferência dos participantes quanto a (a) cerveja padrão ou cerveja de baixo teor alcoólico e (b) cerveja padrão e cada formulação de baixo teor alcoólico..... | 85 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Características recomendadas para a água utilizada na produção de cervejas. | 23 |
| Tabela 2. Temperatura e pH favoráveis de atuação das enzimas. | 28 |
| Tabela 3. Composição das amostras preparadas | 41 |
| Tabela 4. Classificação da cerveja pela cor. | 44 |
| Tabela 5. Fatores e níveis do planejamento fatorial 2^{3-1} para a determinação de parâmetros físico-químicos em cervejas de baixo teor alcoólico..... | 45 |
| Tabela 6. Efeitos médios calculados e seus erros padrão aplicado nos parâmetros físico-químicos para o planejamento fatorial 2^{3-1} | 47 |
| Tabela 7. Valores médios para o parâmetro físico-químico de pH e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} | 48 |
| Tabela 8. Valores médios para o parâmetro físico-químico de acidez total e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} | 49 |
| Tabela 9. Valores médios para o parâmetro físico-químico de teor de sólidos solúveis e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} | 51 |
| Tabela 10. Valores médios para o parâmetro físico-químico de grau alcoólico e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} | 55 |
| Tabela 11. Valores médios para o parâmetro físico-químico de amargor e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} | 58 |
| Tabela 12. Valores médios para o parâmetro físico-químico de amargor e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} | 60 |
| Tabela 13. Perfil de açúcares residuais para a cerveja padrão e cervejas de baixo teor alcoólico. | 67 |
| Tabela 14. Resultados obtidos para o teor de açúcares iniciais do mosto (sólidos solúveis), grau alcoólico e rendimento de fermentação das cervejas. | 72 |
| Tabela 15. Valores obtidos pela equação da reta para os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para o HMF e quantificação nas amostras de cerveja..... | 73 |
| Tabela 16. Notas obtidas para os atributos sensoriais avaliados na cerveja padrão e cervejas de baixo teor alcoólico..... | 81 |
| Tabela 17. Notas obtidas para a frequência de consumo e a qualidade da cerveja padrão e cervejas de baixo teor alcoólico..... | 82 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|-------|--|
| ANOVA | Análise de Variância |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| EBC | <i>European Brewery Convention</i> |
| UV | Ultravioleta |
| IR | Índice de Refração |
| °Brix | Grau Brix |
| °GL | Graus Gay-Lussac |
| HMF | 5-hidroxi-2-metil-furfuraldeído |
| LD | Limite de Detecção |
| LQ | Limite de Quantificação |
| IBU | <i>International Bitterness Unit</i> |
| SRM | <i>Standard Reference Method</i> |

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma das bebidas mais consumidas no mundo, produzida a partir da fermentação do mosto de cereal maltado, e ao mosto cervejeiro é adicionado o lúpulo, que é responsável pelo amargor (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008). A classificação quanto ao teor alcoólico divide-se em cerveja com álcool, que contém quantidade de álcool superior a 0,5 °GL, e em cerveja sem álcool, com volume igual ou inferior a 0,5 °GL de álcool (MAPA, 2009).

O estilo de cerveja mais popular no mundo atualmente é o pilsen, cujo nome se deve à cidade de Plzeň (Pilsen), República Tcheca (MORADO, 2009). Uma cerveja que deriva deste estilo, a *Standard American Lager*, é a mais comercializado no Brasil, e essa boa aceitação se deve ao fato do clima tropical do país favorecer o consumo de uma bebida mais leve e refrescante, com sabores equilibrados, tornando-a a mais popular entre as cervejas (MATOS, 2011).

Além de uma classificação abrangente, há uma subdivisão quanto ao conteúdo de álcool, que inclui a cerveja de baixo teor alcoólico, a qual possui quantidade igual ou inferior a 2,5 °GL de álcool (MAPA, 2009). No cenário atual, o desenvolvimento de cervejas com baixo teor alcoólico torna-se importante por diversos motivos, como alimentação, saúde, segurança, legislação (COSTA, 2016). Assim, a produção de bebidas com baixo teor alcoólico vem conquistando espaço devido à preocupação das indústrias em expandir sua variedade de produtos para um mercado cada vez mais competitivo, além de oferecer um produto adequado para consumidores que buscam ingerir baixas quantidades de álcool (BRANYIK *et al.*, 2012).

O mercado das cervejas de baixo teor alcoólico e sem álcool tem se mostrado em contínuo crescimento, e observa-se que em 2009, do total do consumo de cervejas no Brasil, 1% representava as de baixo teor alcoólico, e no ano de 2014 este número aumentou para 5% em relação ao total. Com estes dados, nota-se que este ramo representa um grande potencial de comercialização, onde os consumidores vêm buscando um consumo cada vez mais controlado. Esta diminuição na ingestão de álcool é ocasionada principalmente pela crescente conscientização da população, que busca aspectos mais saudáveis de vida (COSTA, 2016).

Em relação a produção de cervejas de baixo teor alcoólico, existem dois principais processos, sendo o primeiro um método físico de remoção das moléculas de álcool gerado

pela fermentação, e a segunda um método biológico, onde se faz a interrupção do processo de fermentação para limitar o conteúdo de álcool (MORADO, 2009). A diminuição da quantidade de etanol pode ocasionar alterações no perfil sensorial da cerveja, visto que se trata de uma bebida sensível, podendo influenciar significativamente na sua qualidade (SZOLLOSI, 2016). Nota-se que todos os processos desenvolvidos até o momento modificam de maneira negativa o aspecto físico e sensorial da cerveja, resultando em uma bebida que não se assemelha a uma cerveja tradicional, portanto, essa é uma possível explicação para sua baixa aceitação (BRANYIK *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2009).

O acompanhamento dos parâmetros de qualidade da cerveja é uma prática de grande importância, para que esta apresente características adequadas e resulte em um produto padronizado e agradável sensorialmente aos consumidores. Isso é feito por meio de um monitoramento das etapas de produção da cerveja e do produto final, a partir de análises que determinam suas características e visam uma padronização e consistência do produto (TOZETTO, 2017).

Desta forma, observa-se uma escassez na comercialização de cervejas de baixo teor alcoólico com perfil de sabores e aromas semelhantes as cervejas pilsen tradicionais, que possuam cor, amargor e corpo próximos desse estilo de cerveja. Com isso, abre-se espaço para o desenvolvimento deste produto inovador, buscando novos processos de produção para uma cerveja de baixo teor alcoólico.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Preparar cervejas com baixo teor alcoólico com as características das cervejas *pilsen* puro malte a partir de modificações no processo de produção, e realizar as caracterizações químicas, cromatográficas e sensoriais.

1.2.2 Objetivos específicos

Estudar diferentes condições experimentais do processo produtivo pela aplicação de um planejamento fatorial, com o objetivo de produzir cervejas com teores abaixo de 2,5% de álcool;

Fermentar o mosto resultante utilizando leveduras de baixa fermentação e de alta fermentação;

Caracterizar as bebidas finalizadas por meio de análises físico-químicas de pH, acidez total, teor de sólidos solúveis, teor alcoólico, amargor e cor;

Realizar análises cromatográficas dos seguintes compostos: glicose, frutose, sacarose, maltose e 5-hidroxi-2-metil-furfuraldeído (HMF);

Realizar análise sensorial por meio de escala hedônica para teste de aceitação das cervejas produzidas.

1.3 REFERÊNCIAS

BRANYIK, T.; SILVA, D. P.; BASZCZYNSKI, M.; LEHNERT, R.; SILVA, J. B. A. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. **Journal of Food Engineering**. v. 108, p. 493-506, 2012.

COSTA, R. H. K. **Produção de cerveja com baixo teor alcoólico**. 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, Lorena, 2016.

MATOS, R. A. G. **Cerveja: panorama do mercado, produção artesanal, e avaliação de aceitação e preferência**. 2011. 90 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto n. 6.871, de 4 de Junho de 2009**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm>. Acesso em: 29 de julho de 2019.

MORADO, R. Larousse da cerveja: 1 ed. São Paulo: Larousse do Brasil, 2009.

SILVA, A. E.; COLPO, E.; OLIVEIRA, V. R.; HERBST JUNIOR, C. G.; HECKTHEUER, L. H. R.; REICHERT, F. S. Elaboração de cerveja com diferentes teores alcoólicos através de processo artesanal. **Alim. Nutr.** v. 20, n. 3, p. 369-374, 2009.

SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A. O Processo de Fabricação da Cerveja e seus Efeitos na Presença de Polifenóis. **Alim. Nutr.** v. 19, n. 4, p. 491–498, 2008.

SZOLLOSI, A.; NGUYEN, Q. D.; KOVACS, A. G.; FOGARASI, A. L.; KUN, S.; HEGYESNE-VECSERI, B. Production of low or non-alcoholic beer in microbial fuel cell. **Food and Bioproducts Processing**. v. 98, p. 196-200, 2016.

TOZETTO, L. M. **Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de gengibre (zingiber officinale)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). p. 82, 2017. Ponta Grossa. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.

CAPÍTULO 2: REFERENCIAL TEÓRICO

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO

A cerveja é uma bebida alcoólica fermentada obtida a partir do mosto de cereal maltado, onde o malte de cevada é o mais utilizado. No preparo da cerveja é facultativa a utilização de adjuntos, que vão desde outras matérias primas amiláceas (trigo, centeio, aveia), até açúcares e xarope de glicose. (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008). A fabricação da primeira cerveja não possui registro histórico preciso, e estima-se que tenha ocorrido por volta de 8000 anos a.C., na região da Palestina (REBELLO, 2009). Ao longo da história, o desenvolvimento da cerveja ocorreu em paralelo com a produção de algumas culturas, como milho, centeio e cevada. Diversos povos tiveram participação na difusão da bebida, entre eles sumérios, egípcios, gregos, romanos (NIEMES, 2010; MORADO, 2009). O estabelecimento da Revolução Industrial teve grande influência no modo de produção e distribuição da cerveja, resultando em fábricas maiores e conseqüentemente, na produção dessa bebida em grande escala, iniciando na Inglaterra, Alemanha e Império Austro-Húngaro (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

Algumas teorias dizem que a produção da cerveja está atrelada a fabricação do pão, e acredita-se nisso principalmente porque os dois produtos possuem ingredientes iguais em sua composição, portanto, em determinados períodos esses alimentos integravam o cotidiano de diversos povos, e por esse motivo a cerveja já chegou a ser chamada de “pão líquido” (MORADO, 2009). Um método utilizado pelos povos egípcios para produzir uma cerveja primitiva, chamada “Bouza”, consistia em adicionar pedaços de pão a água quente contendo trigo triturado, onde ocorria a fermentação (MATSUBARA; PLATH, 2014). Além de ser usada na alimentação, a cerveja também já foi utilizada ao longo da história como moeda de troca, como remédio e também como oferenda a deuses (SILVA; LEITE; DE PAULA, 2016).

Por muitos anos, produzir cerveja era uma atividade desempenhada exclusivamente por mulheres, que preparavam os alimentos e as bebidas consumidos pela família e também comercializavam a cerveja, tornando-se um negócio administrado por elas. Essa atividade significou uma independência financeira das mulheres em relação a seus maridos, porém, reações moralistas iniciaram as restrições a presença de mulheres nesta prática. Séculos mais tarde elas começam a retomar gradualmente seu lugar na indústria cervejeira, pois sempre tiveram um importante papel ao longo da história da cerveja (MORADO, 2009).

Nos primeiros anos de produção, a cerveja se caracterizava por apresentar cor escura, sabor forte e por não se adicionar apenas lúpulo ao preparo, mas sim uma mistura de ervas chamada “gruit” (lúpulo, alecrim, artemísia, zimbro, gengibre), sendo este um dos motivos pelo qual ela se deteriorava rapidamente. Após a descoberta do uso do lúpulo pela freira Hildegard von Bingen, em 1167, verificou-se que ele fazia com que a cerveja tivesse uma conservação maior, e também que tinha propriedades antissépticas, além de contribuir com diferentes sabores e aromas (GARBIN, 2017; MORADO, 2009). Outra contribuição para a estabilidade da cerveja foi a descoberta de Louis Pasteur, com o processo de pasteurização de alimentos, o que fez o aspecto microbiológico da bebida ser melhorado significativamente, mantendo as características da cerveja (REBELLO, 2009).

A cerveja teve sua introdução no Brasil por meio da família real portuguesa, no ano de 1808, período de sua mudança para o país. Tendo a aprovação de Portugal, a Inglaterra foi a responsável por trazer esta bebida ao Brasil (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011). A produção da bebida no Brasil inicia entre os anos de 1830 e 1850, em pequenas cervejarias (DRAGONE; SILVA, 2010), e o primeiro registro conhecido sobre cerveja é um anúncio no Jornal do Comércio do Rio de Janeiro, publicado no ano de 1836, oferecendo a “*cerveja brasileira*” (SILVA; LEITE; DE PAULA, 2016; PASSOS, 2012).

2.2 CLASSIFICAÇÃO

A legislação brasileira realiza a classificação da cerveja por meio do decreto número 6871, de 4 de junho de 2009, publicado no Diário Oficial da União de 04/06/2009, que regulamenta a Lei número 8918, de 14 de julho de 1994. Os parâmetros utilizados são: extrato primitivo, cor, grau alcoólico, proporção de malte e tipo de fermentação.

Em relação ao extrato primitivo, que se refere a quantidade de malte utilizada, tem-se a divisão em cerveja leve, com teor de extrato primitivo entre 5,0 e 10,5%, cerveja comum, com teor de 10,5 a 12,0%, cerveja extra, entre 12,0 e 14,0%, e cerveja forte, que possui teor de extrato primitivo acima de 14,0% (BRASIL, 2009).

O parâmetro de cor das cervejas é determinado utilizando como padrão a escala de unidades EBC (*European Brewery Convention*), que varia de 0 a 80, ou SRM (*Standard Reference Method*), entre 0 e 40. A escala mais usada é a EBC, onde cervejas que apresentam valores menores que 20 unidades EBC se classificam como cervejas claras, e aquelas que apresentam valores maiores que 20 unidades EBC são classificadas como cervejas escuras (BRASIL, 2009).

Quanto ao grau alcoólico, se dividem em cerveja sem álcool, que contém quantidade de álcool igual ou inferior a 0,5 °GL, e em cerveja com álcool, com quantidade de álcool superior a 0,5 °GL. Para as cervejas com álcool há ainda uma subdivisão, entre cerveja de baixo teor alcoólico (entre 0,5 e 2,5 °GL de álcool), médio teor alcoólico (2,5 a 4,5 °GL de álcool) e alto teor alcoólico (4,5 a 7,0 °GL de álcool) (BRASIL, 2009).

Para a classificação quanto a proporção de malte, se tem a “cerveja puro malte”, produzida utilizando apenas o malte de cevada como fonte de açúcares, a “cerveja”, que possui 55% ou mais dos açúcares do malte de cevada na composição do extrato primitivo, sendo o restante proveniente de adjuntos cervejeiros (alguns exemplos de adjuntos são: milho, trigo, centeio, aveia, açúcares, xaropes de glicose). Por fim, a “cerveja de (nome do vegetal)”, com teor entre 20 e 55% do extrato primitivo vindo do malte de cevada e o restante de outra fonte, como exemplo a cerveja de trigo, que possui também o malte de trigo como fonte de açúcares (BRASIL, 2009).

Quanto ao tipo de fermentação, são divididas em cerveja de baixa fermentação, onde se utiliza leveduras do tipo *Saccharomyces* com temperatura ideal de trabalho entre 5 e 15 °C, que originam as cervejas *lager*, e em cerveja de alta fermentação, com leveduras *Saccharomyces* que trabalham em temperatura entre 17 e 23 °C e que produzem as cervejas *ale* (BRASIL, 2009).

2.3 ESTILOS

O estilo das cervejas consiste em uma forma de diferenciar os variados tipos de cervejas existente a partir de um conjunto de critérios. O primeiro guia de estilos, *The World Guide to Beer*, foi escrito em 1977 e representa uma referência mundial para classificar cervejas. Além deste guia, o *Beer Judge Certification Program* também é um dos mais aceitos mundialmente, e possui uma classificação mais atual, pois sua última versão foi publicada no ano de 2015 (MORADO, 2009; BJCP, 2019).

A classificação das cervejas quanto ao seu estilo é feita inicialmente de acordo com o tipo de levedura que se utiliza em sua produção. Como citado acima, existem dois tipos de leveduras principais, as leveduras de baixa fermentação, que dão origem a cervejas conhecidas como *lager*, e as de alta fermentação, onde a cerveja que as utilizam são chamadas de *ale*. Dessas duas denominações derivam a maioria os estilos de cervejas conhecidos, tendo as *lager* as características de serem mais claras, leves e suaves do que as *ale*, que tem coloração mais escura, mais corpo e sabores mais complexos. Existe também as cervejas que

são produzidas por fermentação espontânea, que não se inserem nas classificações anteriores, e são chamadas de *lambic* (SANTOS, 2014; MORADO, 2009).

Dentro de cada um desses grandes grupos existem subdivisões para agrupar as cervejas, e isso pode ser feito a partir de diferentes critérios, como pela cor, forma de produção, tipos de ingredientes, origem do estilo (MORADO, 2009). Alguns exemplos de cervejas *lager* são: *pilsen*, *bock*, *dark lager*, *european amber lager*, de cervejas *ale* são: *american ale*, *stout*, *porter*, *india pale ale*, e de *lambic*: *sour ale*, *gueuze*, *fruit lambic* (MATOS, 2011).

2.3.1 Cerveja Pilsen

O estilo de cerveja mais consumido no mundo é a pilsen, e seu nome se deve à cidade de Plzeň (Pilsen), República Tcheca. Neste local foi produzida pela primeira vez a cerveja que hoje se caracteriza por ser clara e refrescante (MORADO, 2009). A cerveja que pertence ao estilo pilsen está inserida no grupo das *lager*, ou seja, obtida através de baixa fermentação, e possui coloração clara, corpo leve e sabor e aroma bem equilibrados. Inserida nesta classificação está a cerveja mais comercializado no Brasil, a *Standard American Lager*, que se difere da cerveja pilsen original por possuir um amargor mais sutil e, por vezes, utilizar adjuntos em sua produção, principalmente o milho, tanto para diminuir custos de produção quanto para resultar em uma cerveja com corpo mais leve. Sua popularidade se deve ao fato do clima tropical brasileiro favorecer o consumo de uma bebida mais leve e refrescante (MATOS, 2011).

2.4 MATÉRIAS PRIMAS

O processo de produção da cerveja possui quatro matérias primas principais de acordo com a lei de pureza alemã de 1516: a água, o malte de cevada, o lúpulo e a levedura (PERIM *et al.*, 2013). Variações destas matérias primas resultam em um grande número de combinações e possibilitam a obtenção de diferentes tipos de cervejas. A utilização de adjuntos cervejeiros é facultativa (NIEMES, 2010; MORADO, 2009). A escolha da qualidade dos ingredientes a serem utilizados no preparo irá influenciar diretamente na obtenção de boas cervejas, sendo esse um parâmetro muito importante para se obter produtos com boa qualidade (MATOS, 2011).

2.4.1 Água

Na composição da cerveja, a água representa aproximadamente 92% do seu peso, sendo este o motivo pelo qual é considerada a principal matéria prima na produção da bebida. No passado, a composição da água de cada região influenciava no produto obtido, portanto, ter uma fonte de água de boa qualidade era fundamental. Atualmente, as tecnologias utilizadas no tratamento de água permitem sua adequação às características desejadas para a cerveja (NIEMES, 2010; MORADO, 2009).

Os parâmetros mais importantes a serem levados em consideração na água que será utilizada para a produção de cerveja são pH, turbidez, concentração de íons, matéria orgânica, dureza, entre outros, e as especificações e limites de aceitação para essas características estão apresentados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Características recomendadas para a água utilizada na produção de cervejas.

| Parâmetro | Unidade | Especificação |
|----------------------------|--------------------------------------|---------------|
| Sabor | - | Insípida |
| Odor | - | Inodora |
| pH | pH | 6,5 – 8,0 |
| Turbidez | NTU | Menor que 0,4 |
| Matéria Orgânica | mg O ₂ L ⁻¹ | 0,0 – 0,8 |
| Sólidos Totais Dissolvidos | mgL ⁻¹ | 50 – 150 |
| Dureza Total | mg CaCO ₃ L ⁻¹ | 18 – 79 |
| Sulfatos | mg SO ₄ L ⁻¹ | 1 – 30 |
| Cloretos | mg Cl L ⁻¹ | 1 – 20 |
| Nitratos | mg NO ₃ L ⁻¹ | Ausente |
| Cálcio | mg Ca ²⁺ L ⁻¹ | 5 – 22 |
| Magnésio | mg Mg ²⁺ L ⁻¹ | 1 – 6 |
| CO ₂ livre | mg CO ₂ L ⁻¹ | 0,5 – 5,0 |

Fonte: MATOS (2011).

Embora todas as grandes cervejarias e uma parte das microcervejarias já utilizem as tecnologias para tratamento de água, aquelas que ainda não o fazem terão seu produto influenciado pelas características encontradas na água utilizada, portanto, principalmente as cervejarias menores oferecem cervejas regionais com aspectos únicos. Por outro lado, estarão

sujeitas a variações no seu produto ocasionada por mudanças nas matérias primas, que são influenciadas por alguns fatores, como o clima. (MATOS, 2011).

2.4.2 Malte

O malte é um grão produzido a partir da germinação artificial dos grãos de cevada, sendo que sua utilização mais popular está no preparo de cerveja. Esse grande emprego para tal finalidade está em algumas características que o malte possui, que são o alto teor de amido, o conteúdo de enzimas, e a transmissão de sabores e aromas característicos desta bebida (EMBRAPA, 2015; ROSA; AFONSO, 2015). Na **Figura 1** se apresenta os grãos do malte e a planta que o origina, a cevada.

Figura 1. Grãos de malte e planta de cevada



Fonte: Agrária (2018)

A germinação artificial pela qual o malte passa leva o nome de malteação. Nesse processo ocorre a germinação da cevada, com temperatura, umidade e aeração controladas, e sua finalização ocorre ao se interromper o processo com a secagem dos grãos e remoção de radículas formadas, obtendo-se assim o malte. A finalidade dessa transformação da cevada em malte é modificar previamente a estrutura dos carboidratos do grão e gerar as enzimas que irão promover a hidrólise de amido e polissacarídeos durante a produção de bebidas alcoólicas, transformando-os em açúcares fermentáveis (SLEIMAN, 2006).

As enzimas mais importantes na produção da cerveja, que estão presentes na casca do malte, são a α -amilase e a β -amilase, existindo ainda as enzimas glucanases e proteases, porém estas têm menor importância em relação às primeiras (NIEMES, 2010). A α -amilase e a β -amilase são as enzimas diastáticas, responsáveis pela quebra do amido em açúcares

menores. A β -amilase faz essa quebra de forma sistemática, resultando em açúcares fermentáveis, principalmente maltose, enquanto a α -amilase faz essa quebra de forma aleatória, o que resulta em açúcares de diferentes tamanhos, chamados dextrinas, e que são responsáveis pelo gosto adocicado das bebidas (OLIVEIRA, 2016).

Cada uma das enzimas citadas possui uma temperatura ideal de atuação, assim como um valor de pH ideal. Para que um determinado grupo de enzimas atue, é necessário fazer o controle de permanência em uma certa temperatura, onde sua atividade irá aumentar com a temperatura até atingir o ponto ótimo, e acima deste ponto as enzimas serão inativadas (NIEMES, 2010).

A legislação brasileira estabelece que, do total de malte utilizado para a fabricação de cervejas, uma parte, correspondente a no máximo 45%, pode ser substituída pelos chamados adjuntos cervejeiros. Os adjuntos têm como função atuar como fonte alternativa de carboidratos para diminuir custos de produção ou para trazer determinadas características para a cerveja, como o milho, que torna o corpo mais leve (D'AVILA, 2012; SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

2.4.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é a matéria prima encarregada de transmitir amargor e aromas para a cerveja através de resinas e óleos essenciais presentes em sua composição, influenciando significativamente nas características sensoriais da bebida. É classificado a partir de sua função para a cerveja, como lúpulo de amargor e lúpulo de aromas (NIEMES, 2010; COSTA, 2016). A **Figura 2** apresenta o lúpulo na forma de flores e de pellets, sendo que esta é uma das formas mais utilizadas no preparo da cerveja.

Figura 2. Lúpulo na forma de flores e de pellets.



Fonte: Agrária (2018)

A fração do lúpulo que se tem maior interesse para a produção de cerveja é a chamada resina mole, composta pelos α -ácidos, principal responsável pelo amargor, e pelos β -ácidos. O lúpulo de amargor recebe esse nome porque possui maior quantidade dos α -ácidos em relação aos óleos essenciais, trazendo o sabor amargo, e o lúpulo de aroma possui maior quantidade dos óleos essenciais do que de α -ácidos, tendo a função de incorporar aromas característicos para a cerveja (DUARTE, 2015; OLIVEIRA; ARAÚJO; SERRANO, 2015).

A composição química do lúpulo consiste em água (8 - 14%), proteínas (12 - 24%), resinas totais (12 - 21%), α -ácidos (4 - 10%), β -ácidos (3 - 6%), taninos (2 - 6%), celulose (10 - 17%), cinzas (7 - 10%) e óleos essenciais (0,5 - 2,0%) (NIEMES, 2010).

2.4.4 Levedura

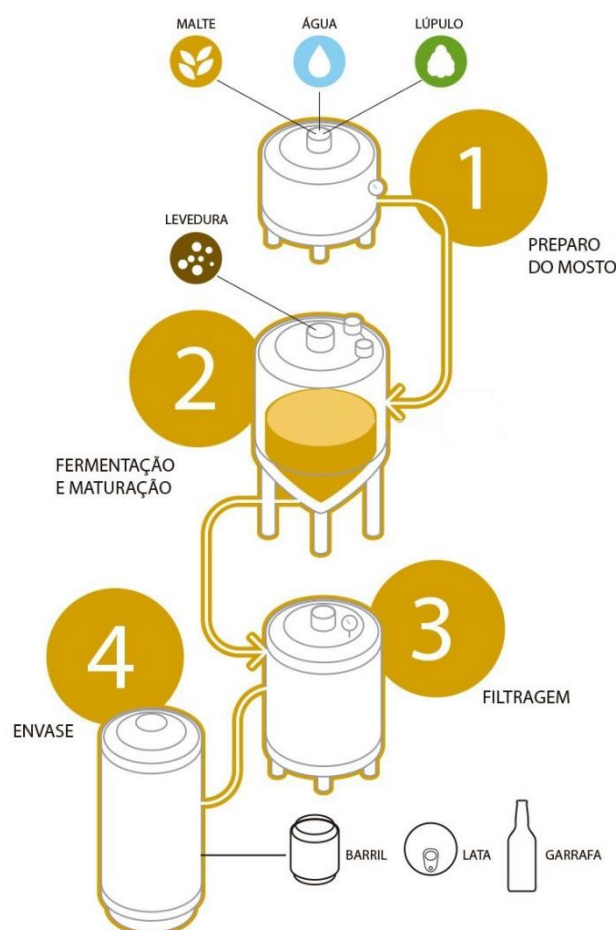
As leveduras são microrganismos pertencentes ao reino dos fungos, com a característica de ser unicelular e, portanto, um organismo simples. Desta forma, crescem e se reproduzem de maneira rápida e eficaz (CARVALHO; BENTO E SILVA, 2006). São as responsáveis pela conversão dos açúcares fermentáveis em etanol e CO₂ na ausência de oxigênio, e também por originar outros compostos desejáveis para a bebida nas quantidades adequadas (COSTA, 2016). Para a produção de cerveja existem dois tipos principais de leveduras, as de baixa fermentação, como a *Saccharomyces pastorianus*, com temperatura ideal de trabalho entre 5 e 15 °C, que originam as cervejas *lager*, e as leveduras de alta fermentação, com temperatura ideal entre 17 e 23 °C, como exemplo a *Saccharomyces cerevisiae*, e que produzem as cervejas *ale* (CARVALHO; BENTO E SILVA, 2006; NIEMES, 2010).

As leveduras disponíveis atualmente são o resultado de modificações e melhoramentos genéticos desenvolvidos ao longo dos anos, que oferecem maior eficiência para o processo de fermentação, além de resultar em melhora da qualidade da bebida e maior variedade nos tipos de cervejas (CARVALHO; BENTO E SILVA, 2006). Existem outros tipos de leveduras, consideradas não selecionadas, que trazem características sensoriais indesejáveis para a cerveja e prejudicam a eficiência de fermentação. São chamadas de leveduras selvagens, e se considera que são contaminantes da bebida, afetando de maneira significativa a qualidade do produto (OLIVEIRA, 2011; NIEMES, 2010).

2.5 PRODUÇÃO DA CERVEJA

O processo realizado para a produção da cerveja conta com quatro etapas principais, chamadas de brassagem, fervura, fermentação e maturação (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008). A **Figura 3** representa um esquema sobre algumas das etapas para a obtenção da cerveja.

Figura 3. Processo de produção da cerveja.



2.5.1 Brassagem

A produção da cerveja inicia com a moagem do malte, para ocorrer o rompimento da casca e expor a porção interna do grão, promovendo melhor atuação enzimática (NIEMES, 2010). Não é desejável que a moagem resulte em uma granulometria excessivamente pequena dos grãos, pois isso pode tornar a etapa de filtração mais difícil (VENTURINI FILHO, 2005).

A etapa seguinte é a brassagem, onde se adiciona o malte moído a água, com objetivo de promover a hidrólise enzimática do amido em açúcares fermentáveis, e nessa etapa se extrai cerca de 65% dos sólidos totais do malte, que juntamente com a água constitui o mosto para a fermentação (AQUARONE et al., 2001; SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008). Para que a hidrólise ocorra, utiliza-se escala de temperaturas e pH adequado da água, pois isso irá possibilitar uma boa atuação das principais enzimas responsáveis pela quebra do amido, a α -amilase e a β -amilase (CARVALHO; BENTO; SILVA, 2006).

Cada uma das enzimas presentes possui uma temperatura ideal de atuação, assim como um valor de pH ideal. Para que um determinado grupo de enzimas atue, é necessário fazer o controle de permanência em uma certa temperatura, onde sua atividade irá aumentar com a temperatura até atingir o ponto ótimo, e acima deste ponto as enzimas serão inativadas (OLIVEIRA; STORTO, 2017; NIEMES, 2010). Na **Tabela 2** estão representados os valores para temperatura e pH propícios de cada enzima.

Tabela 2. Temperatura e pH favoráveis de atuação das enzimas.

| Enzima | Temperatura (° C) | pH |
|------------------------------------|--------------------------|-----------|
| Glucanases | 35-45 | 5,0 |
| Proteases | 45-55 | 5,2-5,6 |
| β-amilase | 60-65 | 5,4-5,6 |
| α-amilase | 70-75 | 5,6-5,8 |

Fonte: OLIVEIRA; STORTO, 2017

No preparo do mosto é definido quanto de açúcar fermentável e não-fermentável será obtido, sendo que apenas os açúcares fermentáveis são consumidos pelas leveduras e isso irá influenciar no corpo da cerveja (MORADO, 2009). Finaliza-se a brassagem com a separação do bagaço de malte por meio de uma filtração, e se faz a lavagem do bagaço com água quente para que os açúcares restantes sejam extraídos (AQUARONE et al., 2001).

2.5.2 Fervura

Para que ocorra a esterilização do mosto, com a eliminação de microrganismos prejudiciais para a cerveja, e a inativação das enzimas do malte, faz-se a fervura do mosto até a temperatura de ebulição da água. Nesse momento ocorre a formação de compostos responsáveis por sabor e coloração da bebida, sendo também possível remover compostos voláteis indesejáveis (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

Durante a fervura também se faz a etapa de lupulagem, onde se adiciona os lúpulos ao mosto em fervura para que ocorra a extração de compostos aromáticos e de amargor do lúpulo. Essa adição é feita em duas etapas, sendo uma no início da fervura para conferir o amargor e a segunda mais ao final, para se obter os aromas característicos de cada tipo de lúpulo (MORADO, 2009).

Outro evento relacionado à fervura é a formação do *trub* quente, quando parte das proteínas constituintes do mosto desnaturam e se aglutinam, e é necessário separar esse aglomerado do mosto para garantir estabilidade e sabor mais suave para a cerveja. Essa separação pode ser feita por meio de alguns processos, como sedimentação, filtração ou *whirlpool* (MORADO, 2009).

2.5.3 Fermentação

O processo de fermentação é feito com a adição de leveduras ao mosto resfriado, onde ocorre a conversão dos açúcares fermentáveis em etanol e CO₂. Alguns fatores contribuem para favorecer o processo de fermentação, como a temperatura adequada, a duração da fermentação, a escolha e a quantidade corretas da levedura a ser utilizada. Deve-se ter um cuidado microbiológico minucioso, pois a contaminação nesta etapa poderá influenciar na qualidade da cerveja (NIEMES, 2010; MORADO, 2009).

De acordo com o metabolismo das leveduras, a glicose é consumida em duas fases: o catabolismo (respiração aeróbica), onde ocorre a replicação celular, seguida pela fase do anabolismo (respiração anaeróbica), com a formação de etanol e gás carbônico. Entre os açúcares fermentáveis presente no mosto, a glicose e a frutose são os primeiros a serem consumidos pelas leveduras, seguidos pela sacarose e, por fim, a maltose (NELSON; COX, 2014).

Durante a fermentação também são formados outros compostos minoritários como subprodutos desse processo, tanto desejáveis quanto indesejáveis para a cerveja. Entre estes compostos destacam-se os álcoois superiores e os ésteres, que conferem características

frutadas favoráveis para a bebida. Já a presença de aldeídos deve ser evitada, bem como de compostos de enxofre, pois irão prejudicar os sabores e aromas da cerveja (MORADO, 2009).

2.5.4 Maturação

Ao término da fermentação tem início o período de maturação, com a finalidade de sedimentação das leveduras, eliminação de substâncias indesejáveis e formação de compostos que caracterizam o sabor, aroma e a cor da cerveja maturada. Esta etapa normalmente é realizada a uma temperatura inferior em relação a fermentação, sendo que este resfriamento também ocasiona reações entre taninos e proteínas presentes na cerveja, que se tornam insolúveis e precipitam-se, possibilitando sua remoção posteriormente e evitando que a cerveja adquira um aspecto de turvação (MORADO, 2009).

Após o período de maturação, que pode durar de 6 a 30 dias a depender do estilo da cerveja, retira-se as leveduras e os compostos insolúveis. A finalização da cerveja é feita por meio da carbonatação, seguida pelo envase, onde ocorre seu armazenamento em garrafas, latas e barris (HANSEN, 2013; NIEMES, 2010).

2.6 CONTROLE DE QUALIDADE

O monitoramento das etapas de produção da cerveja e do produto final é feito por meio de análises que determinam suas características e visam uma padronização e consistência do produto, constituindo o controle de qualidade (TOZETTO, 2017). Os parâmetros físico-químicos de qualidade normalmente utilizados para cerveja são: pH, acidez total, grau alcoólico, amargor e cor, os quais são regulamentados por legislações e guias oficiais de classificação de cervejas (TÓFOLI, 2014).

Alguns compostos químicos presentes na cerveja também são comumente analisados, como o acetaldeído, furfural, 5-hidroxiacetilfurfural (HMF) e aldeídos fenólicos (WYLER, 2013). Entre estes compostos, a análise do HMF é de grande importância para a qualidade da cerveja, pois sua presença acima das concentrações máximas permitidas irá comprometer as características sensoriais da bebida, e por apresentar toxicidade elevada, pode tornar a cerveja imprópria para o consumo (KUTKOSKI, 2018; POLICARPO, 2012). Como a formação do HMF ocorre pela desidratação de açúcares em meio ácido, a quantificação na cerveja pode indicar a degradação do produto caso seja encontrado em concentrações elevadas (ABRAHAM *et al.*, 2011).

Desta forma, considera-se o acompanhamento dos parâmetros de qualidade da cerveja uma prática de grande importância, para que esta apresente características adequadas e resulte em um produto padronizado e agradável sensorialmente aos consumidores.

2.7 CERVEJA DE BAIXO TEOR ALCOÓLICO

2.7.1 Definição e breve histórico

A cerveja de baixo teor alcoólico é uma bebida alcoólica fermentada que se diferencia das demais por apresentar um conteúdo de álcool entre 0,5 e 2,5 °GL. Assim como todas as cervejas, é produzida a partir da fermentação do mosto de cereal maltado (SZOLLOSI *et al.*, 2016; SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008). Por se considerar a cerveja uma bebida delicada, mesmo pequenas modificações em sua produção irão resultar em alterações em suas características sensoriais, assim, a diminuição de etanol para se obter cervejas com baixa graduação alcoólica poderá influenciar significativamente na qualidade da bebida, muitas vezes de maneira negativa (SZOLLOSI, 2016).

Sua produção teve início nos anos 1900 a partir de algumas motivações históricas, como a proibição da venda de bebidas alcoólicas nos Estados Unidos (1919-1933), que ocasionou o desenvolvimento do ramo de bebidas com baixa graduação alcoólica. Outro motivo se deu no período da Primeira Guerra Mundial (1914-1918) e da Segunda Guerra Mundial (1939-1945), onde ocorreu a falta generalizada de matérias primas, e para a cerveja isso representou sua produção com menor quantidade de extrato primitivo, ocasionando o menor teor alcoólico para a bebida (BRANYIK *et al.*, 2012; COSTA, 2016).

No atual cenário, o desenvolvimento de bebidas com baixo teor alcoólico mostra-se em crescimento devido à preocupação das indústrias em oferecer um produto adequado para consumidores que buscam ingerir baixas quantidades de álcool por motivos como saúde, religião, interações medicamentosas (BRANYIK *et al.*, 2012).

2.7.2 Expansão

O mercado cervejeiro, responsável pela produção e comercialização das cervejas de baixo teor alcoólico, tem se mostrado em constante crescimento ao longo dos últimos anos. (COSTA, 2016). A Technavio (2017), uma empresa especializada em pesquisas de mercado, traz um estudo indicando que o mercado global para as bebidas de baixo teor alcoólico deverá aumentar em 38 bilhões de litros no mundo todo, até o ano de 2021. A **Figura 4** apresenta a distribuição das bebidas com baixo conteúdo de álcool no ano de 2016, onde se observa que a

cerveja é a mais consumida neste meio, com 66% do total de bebidas de baixo teor alcoólico avaliadas.

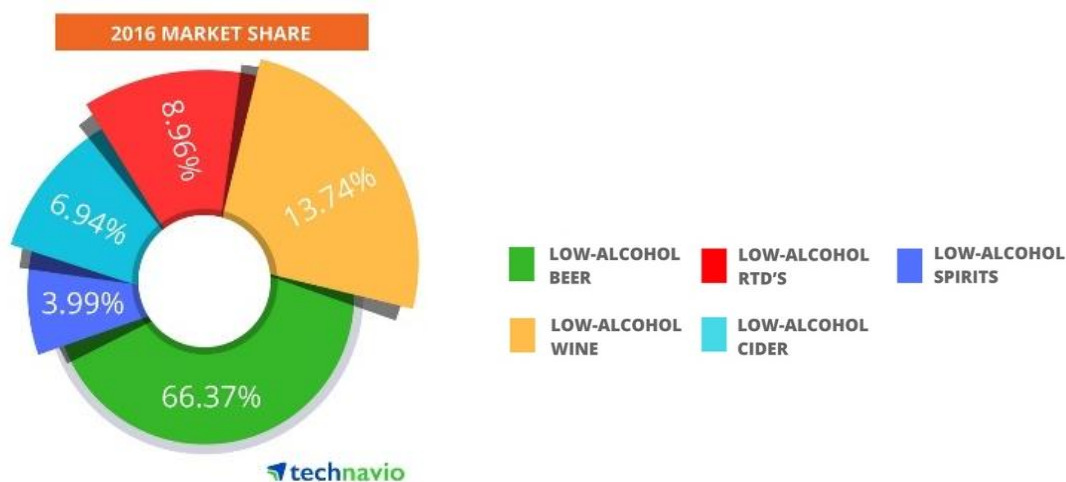


Figura 4. Consumo de bebidas com baixo teor alcoólico.

Fonte: Technavio (2016)

Com estes dados, nota-se que este ramo representa um grande potencial de comercialização, onde os consumidores vêm buscando um consumo cada vez mais controlado. Esta diminuição na ingestão de álcool é ocasionada principalmente pela crescente conscientização da população, que busca aspectos mais saudáveis de vida (COSTA, 2016).

2.7.3 Formas de produção

Existem diferentes formas de se produzir cerveja de baixo teor alcoólico, que são semelhantes as utilizadas para a obtenção de cervejas sem álcool. Destaca-se o método biológico de interrupção do processo de fermentação, para que seja produzido menos álcool pelas leveduras, o de diminuição da quantidade de açúcares fermentáveis do mosto, que consequentemente irá diminuir o teor de álcool, e também o método físico de retirada de moléculas de álcool de uma cerveja que foi produzida e fermentada de maneira tradicional, por meio de técnicas físico-químicas, como exemplo a destilação a vácuo (MORADO, 2009).

Todos esses processos modificam de maneira negativa o aspecto físico e sensorial da cerveja. O método físico faz com que a cerveja fique com pouco corpo, e também não é possível fazer a retirada apenas de moléculas de álcool, outros compostos desejáveis também são retirados, afetando o equilíbrio da bebida. O método biológico pode resultar em uma cerveja com sabor adocicado, pois ao se interromper a fermentação grande parte dos açúcares

não são consumidos, e modificações das condições de trabalho das leveduras irão alterar seu metabolismo, resultando na presença de compostos indesejados e ausência de compostos importantes para uma qualidade sensorial adequada da cerveja (BRANYIK *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2009).

Costa (2016) apresentou uma nova forma para se obter cerveja com baixo teor alcoólico, onde o processo era feito com diferentes proporções de malte e de bagaço de malte com o objetivo de se obter menor quantidade de açúcares fermentáveis, e em consequência, teor alcoólico menor. A análise sensorial das cervejas produzidas teve aceitabilidade baixa na avaliação do público participante.

Visto que a brassagem é de grande importância no preparo da cerveja, pois é nesse estágio que se obtém os açúcares fermentáveis, é possível promover modificações nessa etapa a fim de se alcançar a concentração desejável desses açúcares. Uma extração mais lenta mostra-se adequada para a produção de cerveja com menor teor de álcool, e pode-se conseguir isso utilizando um novo método, denominado brassagem a frio.

2.7.4 Brassagem a frio

A técnica tradicional de produção de cerveja, em que se utiliza escala de temperaturas que vão de 35 a 75 °C, é chamada de brassagem a quente. Neste intervalo de temperaturas se tem a atuação ideal das enzimas responsáveis pela hidrólise do amido, portanto, é possível obter rendimentos máximos de açúcares fermentáveis, que serão convertidos a etanol (ROSA, AFONSO; 2015). Uma técnica inovadora, chamada de brassagem a frio, vem ganhando popularidade entre os cervejeiros devido as suas características diferenciadas.

Este tipo de brassagem é citado pela primeira vez em 2016, pela empresa Briess, fabricante de malte e outros insumos para indústria cervejeira e alimentícia (BRIESS, 2019). A brassagem a frio tem o objetivo de extrair cor dos maltes para as cervejas de forma mais intensa, bem como deixá-las com mais corpo, ao mesmo tempo em que se obtém menor quantidade de açúcares fermentáveis, pois a extração é mais lenta devido à baixa temperatura (BISS, 2016).

Desta forma, pode ser utilizada juntamente com a brassagem a quente para aumentar cor e corpo de alguns estilos de cerveja, como IPA ou *Strong Ale*, ou ainda para fazer o mesmo em cervejas secas sem alterar o conteúdo de açúcar residual, pois como citado anteriormente, a brassagem a frio confere menor quantidade de açúcares para o mosto (BISS, 2016).

Por este motivo e devido as demais características resultantes da brassagem a frio, esta técnica pode ser utilizada para produzir cervejas de baixo teor alcoólico mantendo os aspectos sensoriais das cervejas tradicionais. Uma menor extração de açúcares fermentáveis irá resultar em menor teor alcoólico, ao mesmo tempo em que as demais características da cerveja tradicional, como coloração e corpo, serão semelhantes.

2.8 REFERÊNCIAS

ABRAHAM, K. et al. Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 55, p. 667–678, 2011.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 4, p. 91 – 143.

BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM. 2017. Disponível em: <bjcp.org>. Acesso em: 28 de out. de 2019.

BISS, D. Cold extraction of malt components and their use in brewing applications. **Briess Malt & Ingredients**, 5 de set. de 2016. Disponível em: <<http://blog.brewingwithbriess.com/cold-extraction-of-malt-components-and-their-use-in-brewing-applications/>>. Acesso em: 12 de ago. de 2019.

BRANYIK, T.; SILVA, D. P.; BASZCZYNSKI, M.; LEHNERT, R.; SILVA, J. B. A. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. **Journal of Food Engineering**. v. 108, p. 493-506, 2012.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas. Diário Oficial da União, Brasília, 04 de junho de 2009.

BRIESS. Malt and ingredients company. 2019. Disponível em: <briess.com>. Acesso em: 28 de out. de 2019.

CARVALHO, G. B. M. DE; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. DE A. E. ELEMENTOS BIOTECNOLÓGICOS FUNDAMENTAIS NO PROCESSO CERVEJEIRO : 1ª PARTE – AS LEVEDURAS. **Universidade de São Paulo**, 2006.

COSTA, R. H. K. **Produção de cerveja com baixo teor alcoólico**. Dissertação. 2016. 86 f. Universidade de São Paulo, Lorena, 2016.

D'AVILA, R. et al. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 60–68, 2012.

DRAGONE, Giuliano; SILVA, João B. A. In: FILHO, Waldemar G. V. *Bebidas Alcoólicas: Ciência e tecnologia* - São Paulo: Editora Blücher, vol. 1. 2010.

DUARTE, L. G. R. **Avaliação de emprego de café torrado como aromatizante na produção de cervejas**. Dissertação (Mestrado em Ciências). 2015. 115 f. Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

EMBRAPA. **A Cevada no Brasil**. 2015. Disponível em:
<http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do139_4.htm>. Acesso em: 28 de out. 2019.

GARBIN, R. F. **Turismo cervejeiro: a cerveja artesanal brasileira**. 2017. 136 f. Dissertação (mestrado em Turismo). Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

HANSEN, M. F. **Avaliação dos Processos de Oxidação em Cervejas Tipo Pilsen**. 2011. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2011.

KUTKOSKI, R. F. **Caracterização físico-química de cerveja produzida em uma Micro Cervejaria da região de Guarapuava – PR**. Dissertação (Mestrado em Química). p. 106, 2018. Guarapuava. Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2018.

MATOS, R. A. G. **Cerveja: panorama do mercado, produção artesanal, e avaliação de aceitação e preferência**. 2011. 90f. Monografia. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

MATSUBARA, A. K.; PLATH, A. R. Desenvolvimento de cerveja artesanal de trigo adicionada de gengibre (*zingiberofficinaleroscoe*). 2014. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2014.

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A produção da cerveja no Brasil. **Citino**, v. 1, n. 1, p. 34-42, 2011.

MORADO, R. Larousse da cerveja. 1 ed. São Paulo: Larousse do Brasil, 2009.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger: 6 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2014.

NIEMES, J. P. **Preparação de Cerveja de Mel**. Monografia. p. 56, 2010. Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava. 2010.

OLIVEIRA, S. P. **Desenvolvimento de um Sistema de Controle Digital de Temperatura para Mosturação no Processo de Fabricação de Cervejas Artesanais**. Monografia. p. 74, 2016. Campo Mourão. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.

OLIVEIRA, A. F.; STORTO, L. J. Tópicos em ciências e tecnologia de alimentos: 1 ed. São Paulo: Editora Blucher, 2017.

- OLIVEIRA, C. J. A. DE; ARAÚJO, F. D. C.; SERRANO, H. L. **Estudo Do Uso De Adjuntos Em Mosto Cervejeiro**. 2015. 84 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2015
- OLIVEIRA, N. A. M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- PASSOS, D. A. C. Identificação da competitividade da indústria cervejeira: Uma aplicação de caso da *SaintBier* – Forquilha – SC. 2012. 79 f. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- PERIM, G. A. et al. Influência do pH na Cerveja Artesanal. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 3, p. 261–264, 2013.
- POLICARPO, Â. S. R. Contaminantes Alimentares Resultantes do Processamento Térmico: Furano e Hidroximetilfurfural. Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro, 2012.
- REBELLO, F. F. P. Produção de cerveja. **Agrogeoambiental**, p. 145-155, 2009.
- ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. **Química Nova na Escola**, v. 37, n. 2, p. 98–105, 2015.
- SANTOS, V. C. K. **Uma análise empírica sobre as preferências do consumidor Brasileiro de cervejas artesanais**. Dissertação (Mestrado em Economia). p. 44, 2014. Rio de Janeiro. Fundação Getúlio Vargas, 2014.
- SILVA, LEITE, DE PAULA. Cerveja e Sociedade. Contextos da Alimentação – Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade. Vol. 4 no 2 – março de 2016
- SILVA, A. E.; COLPO, E.; OLIVEIRA, V. R.; HERBST JUNIOR, C. G.; HECKTHEUER, L. H. R.; REICHERT, F. S. Elaboração de cerveja com diferentes teores alcoólicos através de processo artesanal. **Alim. Nutr.** v. 20, n. 3, p. 369-374, 2009.
- SLEIMAN, M. **Determinação do percentual de mante de cevada em cervejas tipo pilsen utilizando os isótopos estáveis do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$)**. Tese (Doutorado em Agronomia). p. 101, 2006. Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP. Botucatu, 2006.
- SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A. O Processo de Fabricação da Cerveja e seus Efeitos na Presença de Polifenóis. **Alim. Nutr.** v. 19, n. 4, p. 491–498, 2008.
- SZOLLOSI, A.; NGUYEN, Q. D.; KOVACS, A. G.; FOGARASI, A. L.; KUN, S.; HEGYESNE-VECSERI, B. Production of low or non-alcoholic beer in microbial fuel cell. **Food and Bioproducts Processing**. v. 98, p. 196-200, 2016.

TÓFOLI, R. J. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de cervejas comerciais e artesanais. Trabalho de conclusão de curso. p. 64, 2014. Assis. Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, 2014.

TOZETTO, L. M. Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de gengibre (zingiber officinale). Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção). p. 82, 2017. Ponta Grossa. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2017.

VENTURINI FILHO, W. G. Tecnologia de Bebidas. 1a ed. São Paulo: Editora Blucher. 2005.

WYLER, P. Influência da Madeira de Carvalho na Qualidade da Cerveja Piracicaba. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). p. 92, 2013. Piracicaba. Universidade de São Paulo, 2013.

CAPÍTULO 3: AMOSTRAGEM

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATÉRIAS PRIMAS

Para o preparo das cervejas foram utilizados os maltes pilsen, caraamber e carapils, adquiridos em uma empresa situada em Guarapuava-PR. Os lúpulos usados foram o *Hallertau Tradition*, que possui de 4,0 a 10,0% de α -ácidos, e o *Hallertau Magnum*, com teor de 11,0 a 16,0% em α -ácidos, ambos da marca HVG.

Duas variedades de levedura foram utilizadas para realização dos experimentos: uma de baixa fermentação (*Saccharomyces pastorianus*, Diamond 3070, liofilizada) e outra de alta fermentação (*Saccharomyces cerevisiae*, Fermentis US-05, liofilizada).

3.2 PRODUÇÃO DA CERVEJA PILSEN PADRÃO

Para produzir a amostra de cerveja padrão, ou seja, de teor alcoólico normal (cerca de 5% v/v), iniciou-se o processo com a moagem de 200 gL⁻¹ de malte em um triturador manual próprio para grãos, para expor o interior dos grãos de malte. Em seguida, adicionou-se 1 litro de água mineral ao malte triturado e deu-se início ao processo denominado brassagem (ou mosturação), usando-se uma escala de temperatura entre 50 e 70 °C (ROSA; AFONSO, 2015).

O mosto resultante foi filtrado para a retirada do bagaço de malte, e posteriormente levado para fervura (a aproximadamente 95 °C), durante uma hora. Nesta etapa foi adicionado o lúpulo *Hallertau Magnum* ao início da fervura, e o lúpulo *Hallertau Tradition* nos 20 minutos finais. Posteriormente, realizou-se nova filtração para eliminação do *trub* quente, constituído de proteínas desnaturadas e a parte do lúpulo insolúvel (ROSA; AFONSO, 2015; BJCP, 2017).

Após o resfriamento do mosto para temperatura ambiente, fez-se a adição de 0,5 gL⁻¹ da levedura liofilizada em água mineral para que ocorresse a hidratação, e em seguida, foi adicionada ao mosto, que foi fermentado por 10 dias a uma temperatura de 8 °C. Após finalizar a fermentação, deixou-se decantar, e fez-se uma trasfega para eliminação das leveduras. Por fim, a cerveja foi armazenada e resfriada para ocorrer a maturação, que teve duração de 7 dias em temperatura entre 0 e 2 °C (ROSA; AFONSO, 2015).

3.3 PRODUÇÃO DAS CERVEJAS DE BAIXO TEOR ALCOÓLICO

Para se obter cervejas de baixo teor alcoólico, utilizou-se metodologia semelhante à usada para o preparo da cerveja padrão, porém com modificações em determinadas etapas da

produção. A primeira estratégia adotada foi a de usar a quantidade de malte pilsen recomendada para o preparo de uma cerveja de teor alcoólico tradicional, 200 gL^{-1} (ROSA; AFONSO, 2015), e também essa quantidade diminuída, para 150 gL^{-1} , a fim de disponibilizar menos açúcares fermentáveis para as leveduras e, conseqüentemente, resultar em um teor alcoólico menor.

Além disso, houve variação entre utilizar o malte moído em sua totalidade e retirando determinada quantidade por meio de peneiração (abertura de 28 mesh). Após a moagem do malte, o amido contido no interior do grão é exposto, possibilitando uma certa separação apenas do amido, sem que se retire muito do conteúdo das cascas do malte, que são de grande importância para o preparo da cerveja. A massa de amido retirada foi pesada posteriormente e adotou-se uma média aproximada (cerca de 40 gramas) a ser retirada em todas as amostras em que se utilizou esta técnica. O intuito deste processo foi de disponibilizar menos amido, e assim, menos açúcares fermentáveis para as leveduras, resultando em um teor alcoólico menor, porém mantendo a quantidade normal de cascas que o malte possui, para que a cerveja obtida se assemelhe a uma cerveja preparada tradicionalmente.

O tipo de levedura utilizado também teve variação, onde se usou a levedura de baixa fermentação em baixa temperatura ($8 \text{ }^\circ\text{C}$), variedade tradicionalmente usada para produzir cervejas pilsen, portanto neste caso a levedura estava trabalhando em condições ideais. Também se utilizou levedura de alta fermentação em baixa temperatura ($8 \text{ }^\circ\text{C}$), porém, sua condição ideal de trabalho é em temperaturas mais elevadas, entre 17 e $23 \text{ }^\circ\text{C}$, portanto, neste caso a levedura estava sendo estressada e trabalhando de forma diferente, mais lenta, e como se manteve o mesmo tempo de fermentação nas duas condições, esperou-se que esta produzisse menor quantidade de álcool na cerveja.

Outra variável foi em relação às duas técnicas de brassagem, a quente e a frio, onde a brassagem a quente é tradicionalmente utilizada para a produção de cerveja e a brassagem a frio é um método inovador e ainda pouco explorado (BIES, 2016). Para a brassagem a quente utilizou-se escala de temperaturas, e o processo de extração teve duração de cerca de 3 horas. A brassagem a frio foi realizada em temperatura constante de $10 \text{ }^\circ\text{C}$, e o período de extração foi mais longo, durando 24 horas.

As amostras são compostas por doze diferentes formulações de cerveja de baixo teor alcoólico e uma de cerveja padrão, preparadas em duplicata, totalizando vinte e seis amostras. A composição de cada bebida preparada é apresentada na **Tabela 3**.

Tabela 3. Composição das amostras preparadas

| Código da amostra | Q | Q-MP | F-MO | F-MP |
|-------------------|---|------|------|------|
| B-20 | X | X | X | X |
| B-15 | - | X | X | X |
| A-20 | - | X | X | X |
| A-15 | - | X | X | X |

B: levedura de baixa fermentação; A: levedura de alta fermentação; Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 20: 200 gL⁻¹ de malte; 15: 150 gL⁻¹ de malte.

3.4 REFERÊNCIAS

BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM. 2017. Disponível em: <bjcp.org>. Acesso em: 28 de out. de 2019.

BIES, D. Cold extraction of malt components and their use in brewing applications. **Briess Malt & Ingredients**, 5 de set. de 2016. Disponível em: <<http://blog.brewingwithbriess.com/cold-extraction-of-malt-components-and-their-use-in-brewing-applications/>>. Acesso em: 12 de ago. de 2019.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. **Química Nova na Escola**, v. 37, n. 2, p. 98–105, 2015.

CAPÍTULO 4: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

4. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1 pH

O pH foi determinado pelo método padrão 168/IV descrito em Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (ZENEBOON; PASCUET; TIGLEA, 2008).

4.1.2 Acidez total

A acidez total foi determinada pelo método padrão 221/IV descrito em Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (ZENEBOON; PASCUET; TIGLEA, 2008).

4.1.3 Teor de sólidos solúveis

A análise do teor de sólidos solúveis presente no mosto foi feita a partir da leitura em refratômetro com escala de graus Brix ABBE BIOBRUX, a 25 °C. Este valor obtido refere-se ao percentual de substâncias presentes em solução, sendo que estas espécies são em sua grande maioria carboidratos (ZENEBOON; PASCUET; TIGLEA, 2008).

4.1.4 Grau alcoólico

Determinou-se a porcentagem de álcool em volume das bebidas pelo método padrão 246/IV descrito em Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (ZENEBOON; PASCUET; TIGLEA, 2008). A graduação alcoólica (°GL) foi obtida pela tabela de conversão da densidade relativa.

4.1.5 Amargor

Foi empregado o método 8.8 do *Analytica – EBC*, recomendado pelo *European Brewery Convention*, para a determinação do amargor nas amostras de cerveja (BRUNELLI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014). Filtrou-se as amostras com papel filtro, posteriormente retirou-se uma alíquota de 10,0 mL, a qual foi acidificada com 1,0 mL de ácido clorídrico 6,0 molL⁻¹. Foi adicionado 20,0 mL de isoctano, e então a mistura foi colocada sob agitação no equipamento *shaker* Tecnal TE-420 a 250 rpm por 15 minutos, onde ocorreu a extração dos compostos de amargor. Em seguida, centrifugou-se as amostras a 4000 rpm durante 5 minutos, e então realizou-se medidas do sobrenadante com um

espectrofotômetro na região do ultravioleta a 275 nm. O amargor das amostras é expresso em unidades de amargor (IBU), e é calculado de acordo com a **Equação 1**.

$$\text{Amargor}_{IBU} = Ab_{275nm} \times 50 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

Ab é a absorvância em comprimento de onda de 275 nm;

IBU é a unidade de medida de amargor.

4.1.6 Cor

A cor das cervejas foi determinada de acordo com a *Analytica*-EBC, onde a análise de cor é feita levando-se em consideração leituras em espectrofotômetro de UV-Vis a 430 nm utilizando cubeta de vidro, por meio da **Equação 2**.

$$EBC \text{ Cor} = A_{430nm} \times 25 \quad (\text{Equação 2})$$

Para a classificação da cor utilizou-se a **Tabela 4**.

Tabela 4. Classificação da cerveja pela cor.

| Cor | Estilo da Cerveja | EBC | Coloração Observada |
|---------------------|----------------------------|-------|---|
| Água | - | 0 |  |
| Amarelo-palha | Lite American Lager | 4-6 |  |
| Amarelo | German Pilsen | 6-8 |  |
| Dourado | Dortmunder Export | 10-12 |  |
| Âmbar | Maibock | 12-18 |  |
| Cobre-claro | California Common Beer | 20-28 |  |
| Cobre | Roggenbier | 28-33 |  |
| Marrom-claro | Roggenbier | 33-35 |  |
| Marrom | Southern English Brown Ale | 37-43 |  |
| Marrom-escuro | Robust Porter | 37-59 |  |
| Marrom muito escuro | Sweet Stout | 59-69 |  |
| Preto | Foreign Extra Stout | 69 |  |
| Preto opaco | Russian Imperial Stout | 79 |  |

*EBC (European Brewing Convention). Fonte: BEERBIER (2013).

4.2 PLANEJAMENTO FATORIAL

Para avaliar a influência das variáveis temperatura de brassagem, processamento do malte e concentração de malte (gL^{-1}) na produção de cervejas de baixo teor alcoólico, foi aplicado um planejamento fatorial fracionário em dois níveis. Os ensaios do planejamento foram feitos em duplicatas. As variáveis estudadas e os níveis avaliados são apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Fatores e níveis do planejamento fatorial fracionário 2^{3-1} para otimização do processo produtivo de cervejas de baixo teor alcoólico.

| Fatores | Nível (-) | Nível (+) |
|---------------------------------------|----------------------|---------------------|
| Temperatura de brassagem (A) | Frio (F) | Quente (Q) |
| Processamento do malte (B) | Malte peneirado (MP) | Malte original (MO) |
| Concentração (gL^{-1}) (C) | 150 | 200 |

Os efeitos dos fatores do planejamento fatorial foram calculados pela **Equação 3**, em que R^+ e R^- são as diferenças das médias dos níveis (+) e (-), respectivamente, dos fatores envolvidos.

$$E_f = (R^+) - (R^-) \quad \text{(Equação 3)}$$

Os efeitos das variáveis nos parâmetros físico-químicos das cervejas de baixo teor alcoólico foram testados para a significância estatística no nível de 95% de confiança pelo cálculo do erro padrão e pelo gráfico de Pareto utilizando o software Minitab v. 16.2.2 (MINITAB, 2010).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos foram utilizados para comparações entre a cerveja padrão e as cervejas de baixo teor alcoólico. Também se comparou os resultados encontrados com os dados da literatura, para verificar se as amostras seguem valores determinados por legislação e por guias oficiais. Essas análises físico-químicas foram importantes para acompanhar as possíveis alterações das características das cervejas de baixo teor alcoólico, comparado com as cervejas padrão.

Para as amostras de cerveja em que se utilizou leveduras de alta fermentação no preparo, observou-se que, ao submetê-las a uma condição de estresse, a produção de álcool praticamente não ocorreu, resultando em cervejas com teor alcoólico menor que 0,5% v/v, considerada sem álcool pela legislação brasileira. Embora o uso das leveduras de alta fermentação tenha resultado em baixo conteúdo de álcool, os aspectos sensoriais preliminares se mostraram desagradáveis, indicando a presença de *off-flavors* (sabores indesejáveis) oriundos de uma fermentação comprometida. Por esse motivo, essas cervejas foram retiradas do conjunto de amostras e se utilizou as cervejas produzidas com leveduras de baixa fermentação para a continuação deste estudo.

Para avaliar a influência das variáveis temperatura de brassagem, processamento do malte e concentração de malte, utilizou-se um planejamento fatorial fracionário (2^{3-1}). As variáveis tipo de levedura (baixa fermentação) e temperatura de fermentação (8°C) permaneceram constantes, pois são as condições ideais para a produção de cerveja *lager*. Os efeitos médios calculados do planejamento fatorial fracionário 2^{3-1} são apresentados na **Tabela 6**.

Tabela 6. Efeitos médios calculados e seus erros padrão aplicado na otimização do processo produtivo de cervejas de baixo teor alcoólico para o planejamento fatorial fracionário 2^{3-1} .

| Efeitos | Estimativas \pm Desvio padrão ^a | | | | | |
|---|--|----------------------------|--------------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|
| | pH | Acidez Total (mEq/L) | Sólidos Solúveis (°Brix) | Grau Alcoólico (%) | Amargor (IBU) | Cor (EBC) |
| Média Global | 4,41 \pm 0,04 | 27,60 \pm 0,90 | 7,33 \pm 0,18 | 2,39 \pm 0,06 | 11,11 \pm 0,13 | 7,50 \pm 0,33 |
| Efeitos Principais | | | | | | |
| Temperatura de brassagem (A) | -0,18 \pm 0,83 | -2,45 \pm 1,80 | 2,35 \pm 0,35 | 1,45 \pm 0,11 | -1,23 \pm 0,27 | -0,08 \pm 0,65 |
| Processamento do malte (B) | -0,18 \pm 0,83 | -3,95 \pm 1,80 | 2,35 \pm 0,35 | 2,50 \pm 0,11 | 0,18 \pm 0,27 | 0,03 \pm 0,65 |
| Concentração (C) | 0,13 \pm 0,83 | 4,40 \pm 1,80 | 2,65 \pm 0,35 | 1,13 \pm 0,11 | 0,43 \pm 0,27 | 1,08 \pm 0,65 |
| Efeitos de interação de dois fatores | | | | | | |
| A x B | 0,13 \pm 0,83 | 4,40 \pm 1,80 | 2,65 \pm 0,35 | 1,13 \pm 0,11 | 0,43 \pm 0,27 | 1,08 \pm 0,65 |
| A x C | -0,18 \pm 0,83 | -3,95 \pm 1,80 | 2,35 \pm 0,35 | 2,50 \pm 0,11 | 0,18 \pm 0,27 | 0,03 \pm 0,65 |
| B x C | -0,18 \pm 0,83 | -2,45 \pm 1,80 | 2,35 \pm 0,35 | 1,45 \pm 0,11 | -1,23 \pm 0,27 | -0,08 \pm 0,65 |

^a O erro padrão dos efeitos foi calculado a partir dos desvios padrão.

4.3.1 pH

O pH do mosto cervejeiro normalmente está situado entre 5,4 e 5,8, pois é a faixa onde as enzimas α -amilase e β -amilase apresentam sua maior eficiência, e após a fermentação tende a diminuir e se situar entre valores de 4,0 e 5,0, pois durante esta etapa diversos ácidos orgânicos são formados pelas leveduras, ocasionando esta diminuição (DE FRANCESCO *et al.*, 2018; BRUNELLI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014; WYLER, 2013). São exemplos de ácidos orgânicos formados durante a fermentação o ácido acético, ácido butanoico, ácido láctico, ácido pirúvico, entre outros (ALVES, 2014). Os resultados do planejamento fatorial para o pH e os efeitos calculados são apresentados na **Tabela 7**.

Tabela 7. Valores médios para o parâmetro físico-químico de pH e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} .

| Fatores | | | | Valores médios \pm Desvio padrão ^a |
|---------|-----|-----|----------|---|
| (A) | (B) | (C) | Amostra* | pH |
| (-) | (-) | (+) | FMP20 | 4,65 \pm 0,15 |
| (+) | (-) | (-) | QMP15 | 4,70 \pm 0,30 |
| (-) | (+) | (-) | FMO15 | 4,35 \pm 0,05 |
| (+) | (+) | (+) | padrão | 4,30 \pm 0,00 |

^a Desvios padrão calculados a partir das duplicatas dos ensaios do planejamento fatorial.

*Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 20: 200 gL⁻¹ de malte; 15: 150 gL⁻¹ de malte.

A análise do teste-*t* e do gráfico de Pareto no nível de 95% de confiança para o parâmetro pH (**Figura 5**) apontou que nenhum dos fatores estudados é significativo, pois os valores de $t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico}}$ e os valores de $p > 0,05$. Observa-se que não houve um efeito de interação significativo entre as três variáveis estudadas na avaliação do pH (**Tabela 6**). Além disso, os valores obtidos para o pH das cervejas estão incluídos na faixa de 4,0 a 5,0 sugeridos na literatura (BRUNELLI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014; WYLER, 2013).

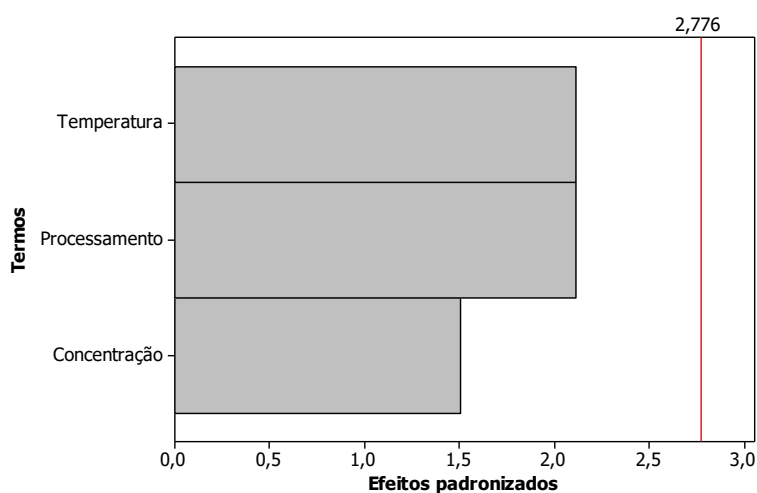


Figura 5. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao parâmetro físico-químico de pH das amostras de cerveja.

Os dados de pH para amostras de cerveja de baixo teor alcoólico descritos na **Tabela 7** se mostram próximos a valores apresentados por Kutkoski e colaboradores (2019) e Alves (2014) para cervejas tipo pilsen tradicionais, onde foram obtidos valores de pH de 4,25 a 4,53 e 4,03 a 4,24, respectivamente. Desta forma, para a análise de pH todas as formulações estão adequadas, podendo-se avaliar outros parâmetros para priorizar as melhores amostras.

4.3.2 Acidez total

Os resultados obtidos para a análise de acidez total das amostras de cerveja são apresentados na **Tabela 8**. O parâmetro de acidez total refere-se aos ácidos orgânicos totais tituláveis na cerveja (GOIANA *et al*, 2016). Por meio dessa análise pode-se indicar contaminação microbiana na cerveja, pelo excesso de ácido acético, e também é possível se observar valores elevados para a acidez total quando se utiliza apenas malte de cevada, ao invés de se usar adjuntos ou malte de trigo para a produção (ALMEIDA; BELO, 2017).

Tabela 8. Valores médios para o parâmetro físico-químico de acidez total e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} .

| Fatores | | | | Valores médios \pm Desvio padrão ^a |
|---------|-----|-----|----------|---|
| (A) | (B) | (C) | Amostra* | Acidez Total (mEq L ⁻¹) |
| (-) | (-) | (+) | FMP20 | 33,00 \pm 1,90 |
| (+) | (-) | (-) | QMP15 | 24,50 \pm 2,00 |
| (-) | (+) | (-) | FMO15 | 24,70 \pm 0,80 |
| (+) | (+) | (+) | padrão | 26,60 \pm 1,10 |

^a Desvios padrão calculados a partir das duplicatas dos ensaios do planejamento fatorial.

*Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 20: 200 gL⁻¹ de malte; 15: 150 gL⁻¹ de malte.

Para este parâmetro, a análise do teste-*t* e do gráfico de Pareto no nível de 95% de confiança (**Figura 6**) também demonstrou que nenhum dos fatores estudados é significativo, pois os valores de $t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico}}$ e os valores de $p > 0,05$. Além disso, não houve um efeito de interação significativo entre as três variáveis estudadas na avaliação da acidez total. Desta forma, é possível fazer a otimização de cada fator de maneira univariada, a fim de se obter teores alcoólicos baixos, pois os efeitos para o parâmetro de acidez total não dependem dos níveis dos fatores estudados.

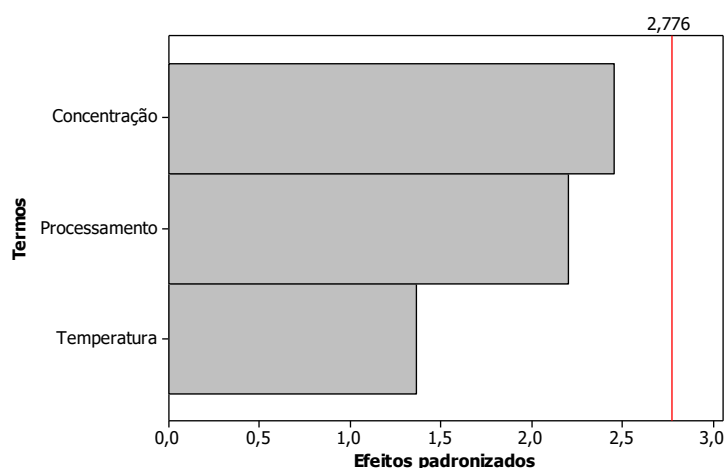


Figura 6. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao parâmetro físico-químico de acidez total das amostras de cerveja.

Para a amostra FMP20, nota-se uma acidez mais elevada em comparação com as demais, e este aumento pode ser resultado da formação dos ácidos acético e fórmico durante a fermentação (KUTKOSKI *et al*, 2019). O valor obtido de $33,0 \text{ mEq L}^{-1}$ se mostra próximo a resultados apresentados por Kutkoski e colaboradores (2019), onde o parâmetro de acidez alcançou valores de $29,5 \text{ mEq L}^{-1}$ para cervejas pilsen.

Em determinados estilos de cerveja, como a *American Pale Ale*, considera-se aceitável uma acidez total mais elevada, como reportou Goiana e colaboradores (2016), onde se encontraram valores de $33,3$ até $46,0 \text{ mEq L}^{-1}$ para cervejas comerciais desse estilo. Na cerveja pilsen de baixo teor alcoólico pode ser necessário uma acidez menor para se obter um equilíbrio sensorial adequado, como se encontrou para as demais amostras deste trabalho.

Nas amostras QMP15 e FMO15, em comparação com a cerveja padrão, nota-se que o valor de pH aumentou e o de acidez total diminuiu. Este comportamento indica que ocorreu a formação de ésteres na etapa de fermentação, pela reação entre um álcool e um ácido carboxílico, como o ácido acético (ROSA; AFONSO, 2015; KUTKOSKI *et al*, 2019). Entretanto, esta variação foi sutil, não comprometendo o equilíbrio sensorial dessas formulações.

4.3.3 Teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis do mosto de uma cerveja se refere ao percentual de substâncias presentes em solução, sendo que estas espécies são em sua grande maioria

carboidratos, entre eles os açúcares fermentáveis. Desta forma, a determinação deste parâmetro irá indicar o grau alcoólico teórico da cerveja. Quando há modificação na etapa de brassagem, a composição do teor de sólidos solúveis também irá mudar, podendo ser composto em grande parte por açúcares não fermentáveis. Esta análise indica a concentração de açúcares total do mosto, não sendo possível diferenciar entre os fermentáveis e os não fermentáveis (OLIVEIRA *et al*, 2015; BIES, 2016). De acordo com a legislação brasileira, o teor inicial de sólidos solúveis que o mosto de uma cerveja comum deve ter é de aproximadamente 11 a 12° Brix, que irá resultar em um grau alcoólico de cerca de 5 °GL após a fermentação (BRASIL, 1997). Os resultados obtidos para teor de sólidos solúveis encontram-se na **Tabela 9**.

Tabela 9. Valores médios para o parâmetro físico-químico de teor de sólidos solúveis e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} .

| Fatores | | | | Valores médios \pm Desvio padrão ^a |
|---------|-----|-----|----------|---|
| (A) | (B) | (C) | Amostra* | Sólidos Solúveis (°Brix) |
| (-) | (-) | (+) | FMP20 | 5,80 \pm 0,20 |
| (+) | (-) | (-) | QMP15 | 6,00 \pm 0,00 |
| (-) | (+) | (-) | FMO15 | 6,00 \pm 0,00 |
| (+) | (+) | (+) | padrão | 11,00 \pm 0,00 |

^a Desvios padrão calculados a partir das duplicatas dos ensaios do planejamento fatorial.

*Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 20: 200 gL⁻¹ de malte; 15: 150 gL⁻¹ de malte.

A análise do teste-*t* e do gráfico de Pareto no nível de 95% de confiança para o teor de sólidos solúveis (**Figura 7, Tabela 6**) apontou que todos os fatores estudados são significativos, pois os valores de $t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}}$ e os valores de $p < 0,05$. Por se tratar de um planejamento fatorial fracionário, os efeitos de interação tornam-se confundidos, devido ao menor número de experimentos. Desta forma, os efeitos de interação devem ser analisados a partir dos efeitos principais. Como todos os efeitos principais foram significativos para este parâmetro, logo, todos os efeitos de interação de dois fatores também são significativos (**Figura 8**).

A amostra padrão, que é uma cerveja preparada de forma tradicional, sem modificações, apresentou teor de sólidos solúveis de 11 °Brix, bem como teor alcoólico de 4,93 °GL, o que indica semelhança com os parâmetros estabelecido pela legislação. Além

disso, demonstra que existe concordância com o grau alcoólico, mostrando que o processo ocorreu de forma satisfatória, pois grande parte dos açúcares fermentáveis obtidos no processo de brassagem foram convertidos em álcool na etapa de fermentação.

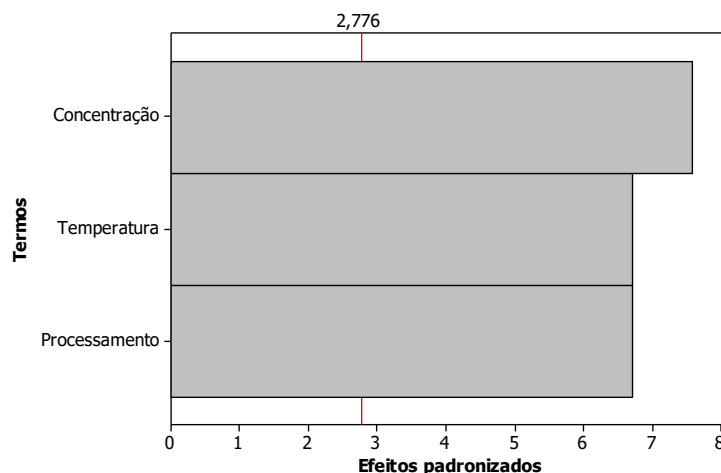
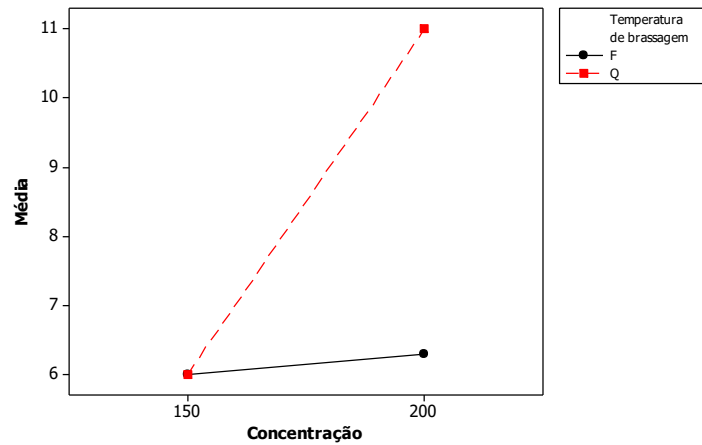


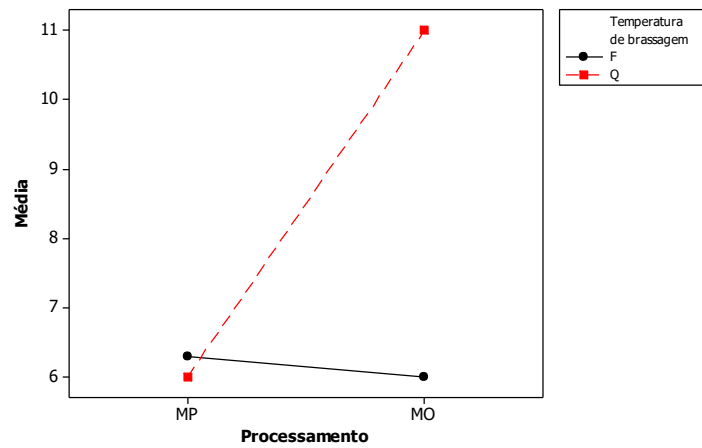
Figura 7. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao teor de sólidos solúveis das amostras de cerveja.

Como os fatores avaliados no planejamento fatorial encontram-se na etapa de brassagem, onde ocorre a extração dos açúcares fermentáveis, observou-se grande influência no parâmetro de teor de sólidos solúveis. Para o fator A (temperatura de brassagem), a extração é mais eficiente em temperaturas mais elevadas, pois favorece a atuação das enzimas. Nota-se que as amostras onde se utilizou brassagem a quente (QMP15 e padrão) os valores para sólidos solúveis foram superiores (6,00 e 11,00 °Brix) em relação a brassagem a frio (amostras FMP20 e FMO15, com 5,80 e 6,00 °Brix, respectivamente).

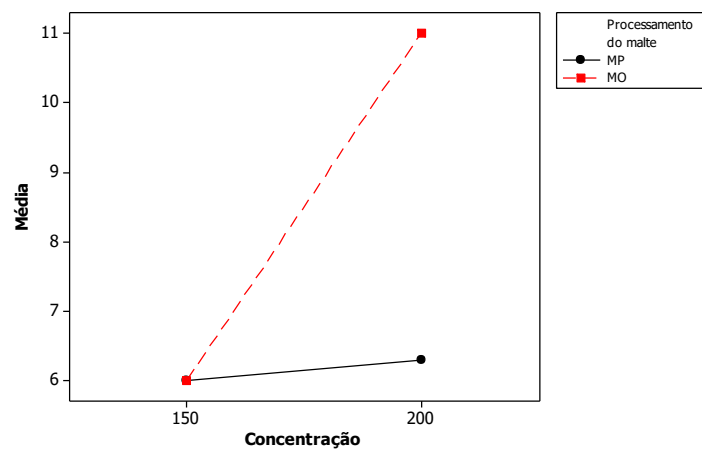
O fator B (processamento do malte) apresenta valores menores para esta análise quando há a retirada de parte do amido (malte peneirado), pois, isso implica em menor quantidade de material para ser hidrolisado e se obter açúcares fermentáveis. Embora diminua o conteúdo de amido, mantem-se as cascas do malte, que são de grande importância para o preparo da cerveja. O fator C (concentração do malte) resulta em teores de sólidos solúveis menores quando se utiliza 150 gL^{-1} de malte, e teores maiores quando se usa 200 gL^{-1} . O motivo é similar ao observado para o fator B, porém neste caso se diminui não só a quantidade de amido, mas também de cascas e demais componentes do malte.



(a)



(b)



(c)

Figura 8. Gráficos dos efeitos de interação entre temperatura de brassagem e concentração (a), temperatura de brassagem e processamento do malte (b) e processamento do malte e concentração (c) para o teor de sólidos solúveis.

Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 200: 200 gL⁻¹ de malte; 150: 150 gL⁻¹ de malte.

Os efeitos de interação de dois fatores (**Figura 8**) indicam que os menores valores de teor de sólidos solúveis, onde se obtém cervejas com baixo teor alcoólico, são alcançados quando se utiliza brassagem a frio, menor concentração de malte e quando se retira parte do amido por peneiração. Todas essas variáveis resultam em menor quantidade de açúcares fermentáveis, portanto, menor teor de álcool após a etapa de fermentação.

As interações entre temperatura de brassagem e concentração do malte (**Figura 8 (a)**) e entre processamento do malte e concentração do malte (**Figura 8 (b)**) indicam uma concordância entre se obter os menores valores para este parâmetro quando se tem menores quantidades de açúcares fermentáveis. Isso ocorre pela concentração mais baixa, pelo processo de peneiração e pela menor temperatura, que resulta em menor extração dos açúcares. Porém, a análise da interação entre temperatura de brassagem e processamento do malte (**Figura 8 (c)**) mostra que um teor de sólidos solúveis menor é obtido quando se usa o malte original, ou seja, maior quantidade de açúcares em relação ao malte peneirado, demonstrando que a temperatura é mais importante do que o processamento do malte para se obter baixos teores de álcool.

Como todas as amostras com modificações na brassagem apresentaram teor de sólidos solúveis adequado para se obter uma cerveja de baixo teor alcoólico (5,80 a 6,00 °Brix), é possível optar por uma combinação que priorize outros aspectos importantes, como cor, corpo, sabores e aromas. Levando-se em consideração que o malte é um dos principais responsáveis por conferir essas características, as amostras que preservam maior quantidade de malte, como a FMP20 e a FMO15, podem ser as mais adequadas para se obter o produto ideal.

4.3.4 Grau alcoólico

Os valores obtidos para a análise de grau alcoólico encontram-se na **Tabela 10**. A análise do teste- t e do gráfico de Pareto no nível de 95% de confiança para o grau alcoólico (**Figura 9, Tabela 6**) apontou que todos os fatores estudados são significativos, pois os valores de $t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}}$ e os valores de $p < 0,05$. Como todos os efeitos principais foram significativos para este parâmetro, logo, todos os efeitos de interação de dois fatores também são significativos (**Figura 10**).

Tabela 10. Valores médios para o parâmetro físico-químico de grau alcoólico e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} .

| Fatores | | | | Valores médios \pm Desvio padrão ^a |
|---------|-----|-----|----------|---|
| (A) | (B) | (C) | Amostra* | Grau Alcoólico (°GL) |
| (-) | (-) | (+) | FMP20 | 0,97 \pm 0,03 |
| (+) | (-) | (-) | QMP15 | 1,78 \pm 0,20 |
| (-) | (+) | (-) | FMO15 | 2,35 \pm 0,07 |
| (+) | (+) | (+) | padrão | 4,93 \pm 0,24 |

^a Desvios padrão calculados a partir das duplicatas dos ensaios do planejamento fatorial.

*Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 20: 200 gL⁻¹ de malte; 15: 150 gL⁻¹ de malte.

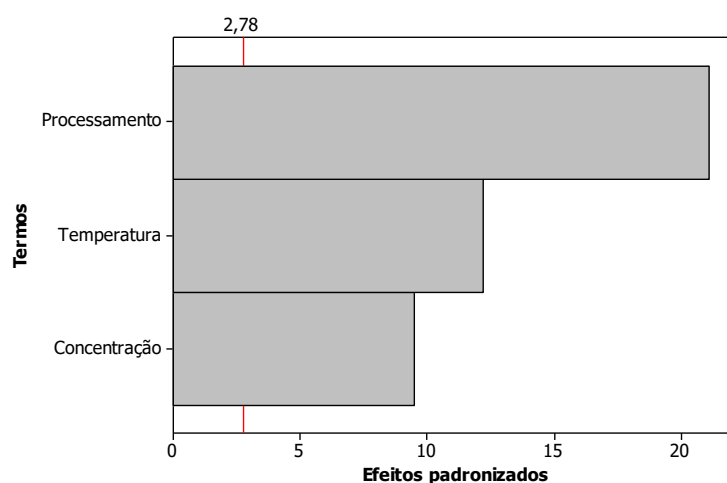


Figura 9. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao grau alcoólico das amostras de cerveja.

O grau alcoólico obtido para a cerveja padrão foi de 4,93 °GL, o que indica uma conversão satisfatória dos açúcares em etanol na etapa de fermentação. A amostra QMP15 foi preparada utilizando brassagem a quente e retirando parte do amido, e observa-se a diminuição no conteúdo de álcool (1,78 °GL) quando comparadas a cerveja tradicional, portanto a mudança no processo trouxe resultados positivos para se obter baixo teor de álcool.

Ao utilizar a técnica de brassagem a frio para o preparo das cervejas, observa-se que o teor alcoólico diminuiu em relação a brassagem a quente. A brassagem a frio tem o objetivo de extrair cor dos maltes para as cervejas de forma mais intensa, bem como deixá-las com

mais corpo, ao mesmo tempo em que se obtém menor quantidade de açúcares fermentáveis, pois a extração é mais lenta devido à baixa temperatura (BIES, 2016). Desta forma, o teor de sólidos solúveis que as amostras preparadas por brassagem a frio apresentam (cerca de 6 °Brix) tendem a ser, em sua grande maioria, açúcares não fermentáveis.

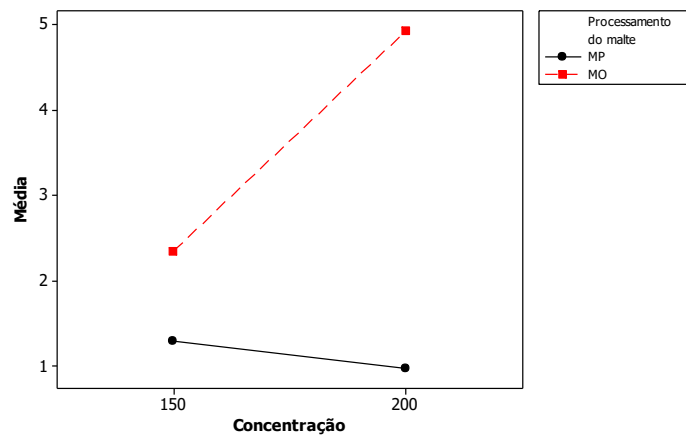
As amostras FMP20 e FMO15 foram preparadas com brassagem a frio, obtendo-se teor alcoólico de 0,97 e 2,35 °GL, respectivamente. Embora a primeira amostra possua maior concentração de malte (200 gL⁻¹), a retirada de parte do amido fez com que a produção de etanol fosse consideravelmente inferior a segunda amostra, que tem concentração de malte menor, mas o utiliza em sua totalidade. Isso demonstra que o processamento do malte é mais importante para a diminuição do teor alcoólico do que a concentração de malte.

Como o teor de sólidos solúveis dessas duas amostras foram similares (5,80 e 6,00 °Brix, respectivamente), é possível que o processamento do malte por meio da peneiração influencie na proporção de açúcares fermentáveis e não fermentáveis do mosto, fazendo com que este apresente maior concentração e, em consequência, o grau alcoólico seja menor.

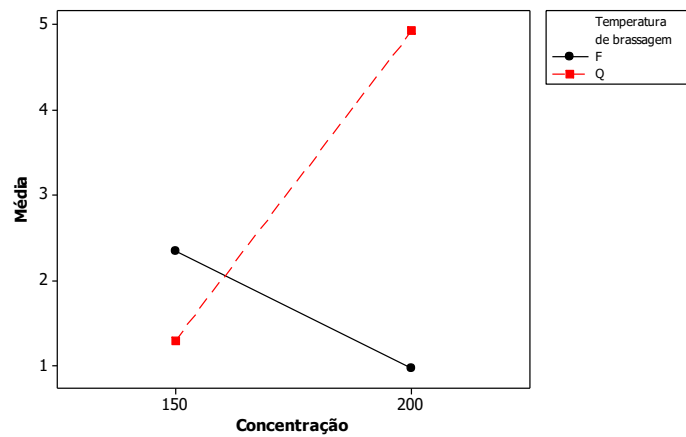
Como os parâmetros de sólidos solúveis e grau alcoólico são dependentes entre si, observa-se que os efeitos de interação de dois fatores desta análise (**Figura 10**) também indicam que os menores valores de grau alcoólico são obtidos quando se utiliza brassagem a frio, menor concentração de malte e quando se retira parte do amido por peneiração. Todas essas variáveis resultam em menor quantidade de açúcares fermentáveis, portanto, menor teor de álcool após a etapa de fermentação, sendo possível obter cervejas de baixo teor alcoólico.

As interações entre processamento e concentração do malte (**Figura 10 (a)**) e temperatura de brassagem e concentração do malte (**Figura 10 (b)**) apresentaram o menor teor alcoólico quando se tinha a maior quantidade de malte (200 gL⁻¹), logo, mais açúcares fermentáveis. Isso indica que o uso de brassagem a frio e a peneiração do malte podem ter resultado em maior concentração de açúcares não fermentáveis, que não são convertidos a etanol pelas leveduras.

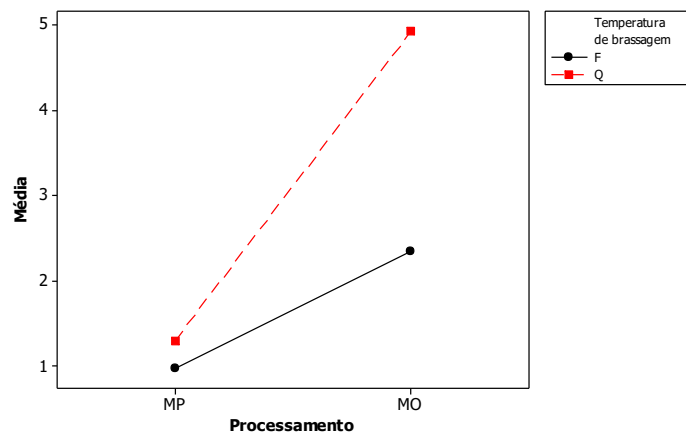
Assim como ocorre para a análise de sólidos solúveis, as amostras com modificações na brassagem apresentaram grau alcoólico adequado para uma cerveja de baixo teor alcoólico (máximo de 2,5 °GL), pois estes dois parâmetros são diretamente proporcionais. Assim, pode-se priorizar uma combinação que utilize maior quantidade de malte, como a FMP20, para se obter características como cor, corpo, sabores e aromas similares a uma cerveja pilsen tradicional.



(a)



(b)



(c)

Figura 10. Gráficos dos efeitos de interação entre processamento do malte e concentração (a), temperatura de brassagem e concentração (b) e temperatura de brassagem e processamento do malte (c) para o grau alcoólico.

Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 200: 200 gL⁻¹ de malte; 150: 150 gL⁻¹ de malte.

4.3.5 Amargor

O amargor é uma característica importante para o aspecto sensorial da cerveja, e utiliza-se Unidades de Amargor (IBU) para quantificá-lo (BRUNELLI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014). De acordo com o guia de estilos de cerveja do *Beer Judge Certification Program* (BJCP), os valores de amargor para o estilo de cerveja *Standard American Lager* são de 8 a 15 IBU, sendo esta uma subdivisão do estilo pilsen (BJCP, 2009).

A análise de amargor, onde os resultados são apresentados na **Tabela 11**, apresentou valores de 10,1 a 11,9 IBU para as amostras, considerando a cerveja padrão e as cervejas de baixo teor alcoólico.

Tabela 11. Valores médios para o parâmetro físico-químico de amargor e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} .

| Fatores | | | | Valores médios \pm Desvio padrão ^a |
|---------|-----|-----|----------|---|
| (A) | (B) | (C) | Amostra* | Amargor (IBU) |
| (-) | (-) | (+) | FMP20 | 11,90 \pm 0,20 |
| (+) | (-) | (-) | QMP15 | 10,10 \pm 0,40 |
| (-) | (+) | (-) | FMO15 | 11,60 \pm 0,08 |
| (+) | (+) | (+) | padrão | 10,90 \pm 0,35 |

^a Desvios padrão calculados a partir das duplicatas dos ensaios do planejamento fatorial.

*Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 20: 200 gL⁻¹ de malte; 15: 150 gL⁻¹ de malte.

Em um estudo realizado por Schönberger (2007), apontou-se uma tendência de diminuição do amargor de alguns estilos de cervejas, entre elas a pilsen. Essa pesquisa foi realizada com base em resultados obtidos por especialistas em avaliação da preferência dos consumidores, e observou-se que, se antes o amargor se situava entre 20 e 50 IBU, com o passar dos anos passou para a faixa de 10 a 25 IBU.

A análise do teste-*t* e do gráfico de Pareto no nível de 95% de confiança para amargor (**Figura 11, Tabela 6**) apontou que o fator A (temperatura de brassagem) é significativo, pois o valor de $t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}}$ e os valores de $p < 0,05$. Assim, por se tratar de um planejamento fatorial fracionário, existe efeito de interação significativo entre os fatores B e C, ou seja, entre o processamento do malte e a concentração de malte (**Figura 12**), portanto esses fatores

não podem ser analisados separadamente, pois os seus efeitos dependem dos níveis de outras variáveis.

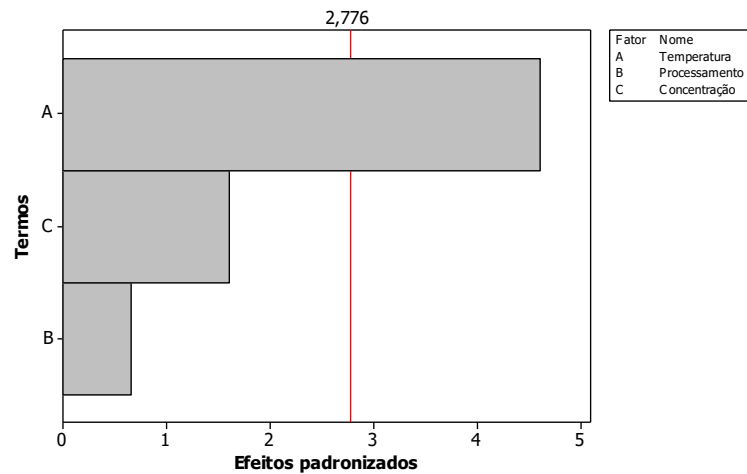


Figura 11. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao amargor das amostras de cerveja.

Por meio da análise do gráfico dos efeitos de interação observa-se que o maior valor para o amargor é obtido quando se utiliza a concentração de 200 gL^{-1} de malte e se retira parte do amido, e o menor valor ao modificar apenas a concentração, para 150 gL^{-1} .

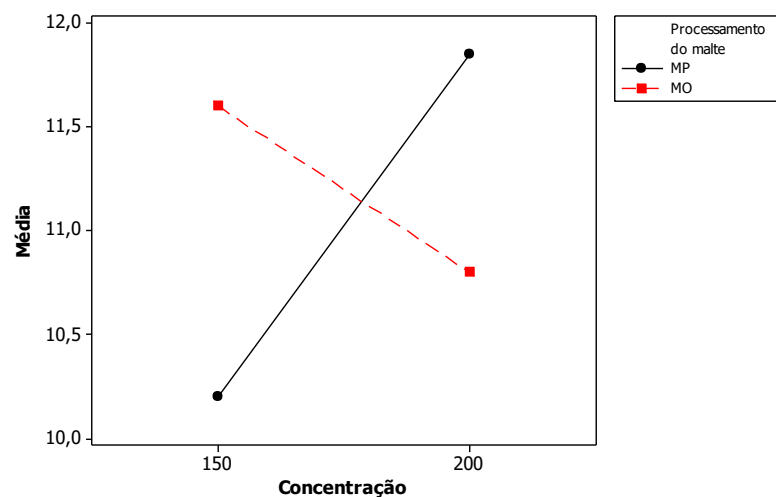


Figura 12. Gráfico do efeito de interação entre processamento e concentração de malte para o parâmetro de amargor.

MP: malte peneirado; MO: malte original; 200: 200 gL^{-1} de malte; 150: 150 gL^{-1} de malte.

Todos os valores obtidos se encontram dentro da faixa recomendada pelo guia para este estilo de cerveja. Kutkoski e colaboradores (2019) analisaram o amargor de amostras de cerveja pilsen produzidas em uma microcervejaria e encontraram valores de 9,1 a 12,8 IBU, apresentando maior variação entre as amostras, porém em uma faixa similar a este trabalho.

4.3.6 Cor

O parâmetro de cor das cervejas é determinado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) utilizando como padrão a escala de unidades EBC (*European Brewery Convention*). De acordo com esta escala, cervejas que apresentam valores menores que 20 unidades EBC se classificam como cervejas claras, e aquelas que apresentam valores maiores que 20 unidades EBC são classificadas como cervejas escuras (BRASIL, 2009). Os resultados obtidos para a análise de cor das cervejas encontram-se na **Tabela 12**.

Tabela 12. Valores médios para o parâmetro físico-químico de amargor e seus desvios padrão obtidos pelo planejamento fatorial 2^{3-1} .

| Fatores | | | | Valores médios \pm Desvio padrão ^a |
|---------|-----|-----|----------|---|
| (A) | (B) | (C) | Amostra* | Cor (EBC) |
| (-) | (-) | (+) | FMP20 | 8,00 \pm 0,05 |
| (+) | (-) | (-) | QMP15 | 6,00 \pm 0,30 |
| (-) | (+) | (-) | FMO15 | 7,00 \pm 0,00 |
| (+) | (+) | (+) | padrão | 8,00 \pm 0,00 |

^aDesvios padrão calculados a partir das duplicatas dos ensaios do planejamento fatorial.

*Q: brassagem a quente; F: brassagem a frio; MP: malte peneirado; MO: malte original; 20: 200 gL⁻¹ de malte; 15: 150 gL⁻¹ de malte.

A análise do teste-*t* e do gráfico de Pareto no nível de 95% de confiança para o parâmetro cor (**Figura 13**) apontou que nenhum dos fatores estudados é significativo, pois os valores de $t_{\text{calculado}} < t_{\text{crítico}}$ e os valores de $p > 0,05$. Observa-se que não houve um efeito de interação significativo entre as três variáveis estudadas na avaliação da cor das cervejas (**Tabela 6**).

O valor obtido para a cor foi de 8 EBC para a cerveja padrão, que corresponde a coloração amarela de acordo com a **Tabela 4**. Para as amostras de cerveja de baixo teor alcoólico, quando se utilizou o método de brassagem a quente, o valor obtido foi de 6 EBC, que correspondem a coloração amarelo-palha. É possível observar que a coloração final da

cerveja foi proporcional à quantidade de malte utilizada no processo, ou seja, quanto menor, mais clara a cerveja.

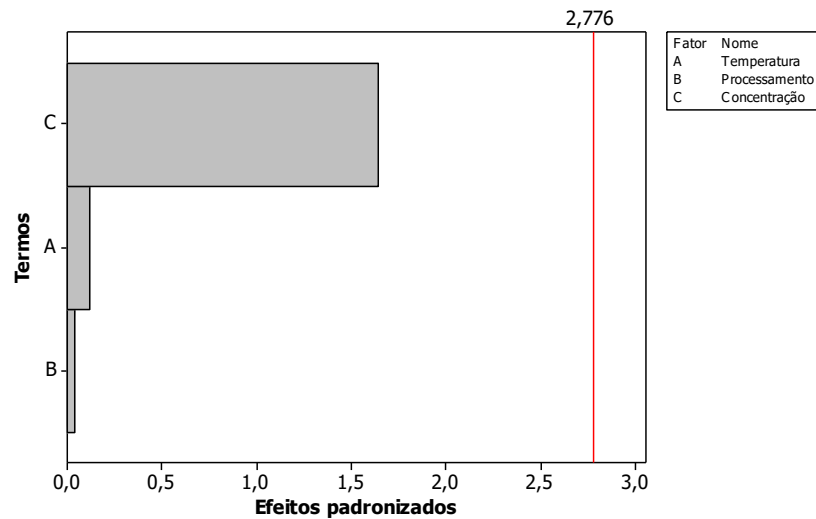


Figura 13. Gráfico de Pareto no nível de confiança de 95% para os efeitos padronizados do planejamento fatorial aplicado ao parâmetro físico-químico de cor das amostras de cerveja.

Quando foi usado o método de brassagem a frio, obteve-se resultados entre 7 e 8 EBC, que também correspondem a coloração amarelo, porém observa-se o aumento em 1 ou 2 unidades em relação ao método anterior, chegando a se igualar com a amostra padrão. Isso se deve à utilização da baixa temperatura e maior tempo de extração durante a brassagem, contemplando um dos objetivos de se usar a brassagem a frio, que é conferir mais coloração para a cerveja quando comparada a brassagem a quente (BIES, 2016).

Em relação a cor, é desejável que a cerveja de baixo teor alcoólico possua coloração em tom de amarelo mais intenso, para que esteja próximo ou igual a cerveja padrão. Desta forma, para este parâmetro a formulação mais adequada é a FMP20, porém, embora se note que a cor se iguala a da cerveja padrão, ainda se deseja que ambas se apresentem mais escuras, sendo necessário a correção da coloração. Isso pode ser feito principalmente por meio do malte, que é a matéria prima responsável por conferir cor para a cerveja.

4.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Os parâmetros físico-químicos de pH, acidez total, amargor e cor das cervejas de baixo teor alcoólico se mostraram próximos aos da cerveja pilsen padrão, bem como a resultados encontrados na literatura para cervejas comerciais, demonstrando que modificações no processo de produção não alteraram essas características próprias do estilo pilsen.

A análise de grau alcoólico apresentou valores adequados para a cerveja padrão, seguindo o que solicita a legislação brasileira e guias oficiais para cervejas, e nas cervejas de baixa graduação alcoólica, teores de álcool de no máximo 2,5 °GL respeitaram a classificação e indicaram que as alterações realizadas no processo resultaram em menor conteúdo de álcool. Além disso, os resultados do planejamento fatorial mostraram que apenas os parâmetros de sólidos solúveis e grau alcoólico possuem significância nos efeitos principais e de interação diante dos três fatores analisados, sendo que todas as variáveis estudadas possuem influência nesses dois parâmetros. Desta forma, exista a necessidade de se controlar apenas o teor de sólidos solúveis e o grau alcoólico, e os demais parâmetros físico-químicos de pH, acidez total, amargor e cor não precisam ser controlados.

A caracterização físico-química demonstra que as formulações FMO15 e FMP20 se mostram, preliminarmente, como as cervejas de baixo teor alcoólico mais adequadas, pois são combinações que resultam em maior quantidade de malte, e propicia a conservação de características como cor, corpo, sabores e aromas similares a uma cerveja pilsen tradicional.

4.5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. S. DE; BELO, R. F. C. Análises físico-químicas de cervejas artesanais e industriais comercializadas em sete Lagoas-mg. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 5, n. 5, p. 1–16, 2017.

ALVES, Lindemberg Martins Ferreira. **Análise Físico-Química de Cervejas Tipo Pilsen Comercializadas em Campina Grande na Paraíba**. 2014. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM. Beer Style International Bittering Units (IBU). 2009. Disponível em: <<https://www.brewersfriend.com/2009/01/24/beer-styles-ibuchart-graph-bitterness-range/>>. Acesso em: 29 de jul. de 2019.

BIES, D. Cold extraction of malt components and their use in brewing applications. **Briess Malt & Ingredients**, 5 de set. de 2016. Disponível em: <<http://blog.brewingwithbriess.com/cold-extraction-of-malt-components-and-their-use-in-brewing-applications/>>. Acesso em: 12 de ago. de 2019.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas. Diário Oficial da União, Brasília, 04 de junho de 2009.

BRASIL. Decreto n. 2.314, de 4 de setembro de 1997. Regulamenta a lei n 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 5 set. 1997.

BRUNELLI, L. T.; MANSANO, A. R.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização Físico-Química de Cervejas Elaboradas com Mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 19–27, 2014.

DE FRANCESCO, G. et al. Mrakia gelida in brewing process: An innovative production of low alcohol. *Food Microbiology*, v. 76, p. 354-362, 2018.

GOIANA, M. L. et al. **Análises Físico-Químicas de Cervejas Artesanais Pale Ale Comercializadas em Fortaleza, Ceará**. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Anais. Gramado: FAURGS, 2016.

KUTKOSKI, R. F. et al. Influência do Processamento e da Matéria Prima nas Características Físico-Químicas de Cerveja Lager Produzida em uma Microcervejaria. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 3, p. 720-740, 2019.

MINITAB. **Minitab Incorporation, USA.**, 2010.

NIEMES, J. P.; ROSA, M. R. DA; FELSNER, M. L. Hidromel - Preparação e caracterização de diferentes tipos: 1 ed. Saarbrücken: Novas Edições Acadêmicas, 2016.

OLIVEIRA et al. Elaboração de Cerveja Artesanal a Partir da Substituição Parcial do Malte por Mel. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 6, n. 3, p. 1-10, 2015.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. *Química Nova na Escola*, v. 37, n. 2, p. 98–105, 2015.

SCHÖNBERGER, C. Bitter is better – a review on the knowledge about bitterness in beer. Disponível em: <https://my.johnihaas.com/cmsdk/content/bhg/research/pdf/06_bitterisbetter_Schoenbe_MfB.pdf>. Acesso em: 29 de julho de 2019.

WYLER, P. **Influência da Madeira de Carvalho na Qualidade da Cerveja**. 2013. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **Métodos físico-químicos para análise de Alimentos**, p. 589–625, 2008.

CAPÍTULO 5: CARACTERIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA

5. CARACTERIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA

5.1 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES POR CLAE-IR

5.1.1 Materiais

Utilizou-se os padrões de glicose anidro (D (+) glicose), frutose (D (-) frutose), sacarose (D (+) sacarose) e maltose (D (+) maltose) puríssimas da marca VETEC. A acetonitrila (grau CLAE) foi adquirida da Tedia (Brasil).

5.1.2 Condições cromatográficas

A quantificação dos açúcares presentes nas cervejas formuladas foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Niemes, Rosa e Felsner (2016), onde a curva analítica foi construída numa faixa de 10 a 50 mg mL⁻¹ a partir de uma solução estoque. Se utilizou sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) Waters Controller 600 com injetor manual e loop de 5 µL, equipado com detector de índice de refração Waters 2414 e detector PDA Waters 2996, utilizou-se coluna analítica amino de aço inox Waters Spherisorb (4,6x250 mm, 5 µm). A temperatura da coluna e detector foram ajustadas a 40 °C. A fase móvel utilizada foi acetonitrila/água 80:20 (v/v), com fluxo de 0,8 mL min⁻¹.

5.2 DETERMINAÇÃO DE HMF POR CLAE-UV

5.2.1 Materiais

Utilizou-se o padrão de 5-hidroximetilfurfuraldeído (HMF 99%) Sigma-Aldrich (St Louis, Estados Unidos) e ácido fórmico (85%) Synth (São Paulo, Brasil). A acetonitrila (grau CLAE) foi adquirida da Tedia (Brasil). Foi utilizada água ultrapura, purificada em sistema Direct-Q UV3® Millipore, com resistividade 18,2 MΩ cm, Millipore.

5.2.2 Condições cromatográficas

A análise cromatográfica para quantificação de HMF foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Niemes (2018) e Kutkoski (2018), onde a curva analítica foi construída numa faixa de 2 a 6 µg mL⁻¹ a partir de uma solução estoque de HMF (1000 µg mL⁻¹). Utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters Alliance 2695® com detector de arranjo de diodo (DAD) 2998 operando no comprimento de onda de 285 nm. A separação cromatográfica ocorreu numa coluna Xterra RP-18 (5,0 µm, com dimensões de 4,6 mm por 250 mm) a 30 °C. A fase móvel utilizada foi água (com adição de 0,5 % (v/v) de

ácido fórmico) e acetonitrila na proporção 90:10 (v/v). A separação foi realizada no modo de eluição isocrático em um fluxo de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ e com injeção de $20 \mu\text{L}$ de amostra.

5.3 REGRESSÃO LINEAR

Para se avaliar a linearidade da curva de calibração construída foi realizada uma regressão linear e teste de falta de ajuste do conjunto de dados obtidos para a curva analítica (NIEMES, 2018; ANDRADE et al., 2016; ARAUJO, 2009) utilizando para o limite de confiança o valor de 95%. A significância dos coeficientes da curva analítica (intercepto e inclinação) foram avaliados por meio de teste-*t*. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software Minitab v. 16.2.2* (MINITAB, 2010).

5.4 LIMITE DE DETECÇÃO (LD) E DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados baseados em $(3 \times \text{SD})/m$ e $(10 \times \text{SD})/m$, respectivamente, onde *m* é a inclinação da curva analítica e *SD* é o desvio padrão do intercepto da curva analítica (NIEMES, 2018; ANDRADE et al., 2016; ICH, 1996).

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para investigar diferenças significativas nos parâmetros físico-químicos de teor de sólidos solúveis, pH, acidez, teor alcoólico, rendimento de fermentação, amargor, cor, e teor de açúcares para a amostra de cerveja padrão e todas formulações de baixo teor alcoólico, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de um fator. Todas as análises estatísticas foi realizada no nível de 95% de confiança, e o Teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o *software Minitab v. 16.2.2* (MINITAB, 2010).

5.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.6.1 Determinação de açúcares por CLAE-IR

O estudo do perfil de açúcares das cervejas foi realizado por meio da aplicação do método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector por Índice de Refração (CLAE-IR) nas amostras de cerveja padrão e de baixo teor alcoólico e em seus respectivos mostos, a fim de se analisar os açúcares iniciais e residuais. Os teores de açúcares obtidos são apresentados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Perfil de açúcares residuais para a cerveja padrão e cervejas de baixo teor alcoólico.

| Amostra | Frutose (mg mL ⁻¹)* | | Glicose (mg mL ⁻¹)* | | Sacarose (mg mL ⁻¹)* | | Maltose (mg mL ⁻¹)* | |
|---------------|------------------------------------|------------------|------------------------------------|------------------|-------------------------------------|------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| | Mosto | Cerveja | Mosto | Cerveja | Mosto | Cerveja | Mosto | Cerveja |
| Padrão | 4,95 ± 0,92 ^a | <LD ^a | 20,80 ± 0,84 ^a | <LD ^a | 3,80 ± 0,79 ^a | <LD ^a | 62,25 ± 2,13 ^a | 1,65 ± 0,37 ^a |
| QMP15 | <LD ^b | <LD ^a | 8,85 ± 0,35 ^c | <LD ^a | <LD ^b | <LD ^a | 26,40 ± 1,17 ^b | 0,43 ± 0,50 ^a |
| QMP20 | <LD ^b | <LD ^a | 9,50 ± 0,27 ^c | <LD ^a | <LD ^b | <LD ^a | 28,50 ± 1,19 ^b | 0,72 ± 0,02 ^a |
| FMP15 | <LD ^b | <LD ^a | <LD ^d | <LD ^a | <LD ^b | <LD ^a | 23,00 ± 0,82 ^b | <LD ^a |
| FMP20 | <LD ^b | <LD ^a | <LD ^d | <LD ^a | <LD ^b | <LD ^a | 22,30 ± 1,43 ^b | 1,20 ± 0,18 ^a |
| FMO15 | <LD ^b | <LD ^a | 11,25 ± 0,35 ^b | <LD ^a | <LD ^b | <LD ^a | 33,80 ± 0,35 ^b | 0,31 ± 0,40 ^a |
| FMO20 | <LD ^b | <LD ^a | 7,50 ± 0,66 ^c | <LD ^a | <LD ^a | <LD ^a | 23,00 ± 1,37 ^b | 0,50 ± 0,70 ^a |

* Letras iguais para cada parâmetro indicam que não existem diferenças significativas a 95% de confiança por meio da aplicação do teste de comparação múltipla de médias de Tukey.

<LD: menor que o limite de detecção.

Os cromatogramas obtidos para a construção da curva de calibração são apresentados na **Figura 14**, e para a quantificação dos açúcares nas amostras de mosto e de cerveja são apresentados nas **Figuras 15 e 16**, respectivamente. O tempo de retenção observado para a frutose foi de aproximadamente 8,9 minutos, para a glicose 10,8 minutos, para a sacarose 15,3 minutos e para a maltose 18,0 minutos.

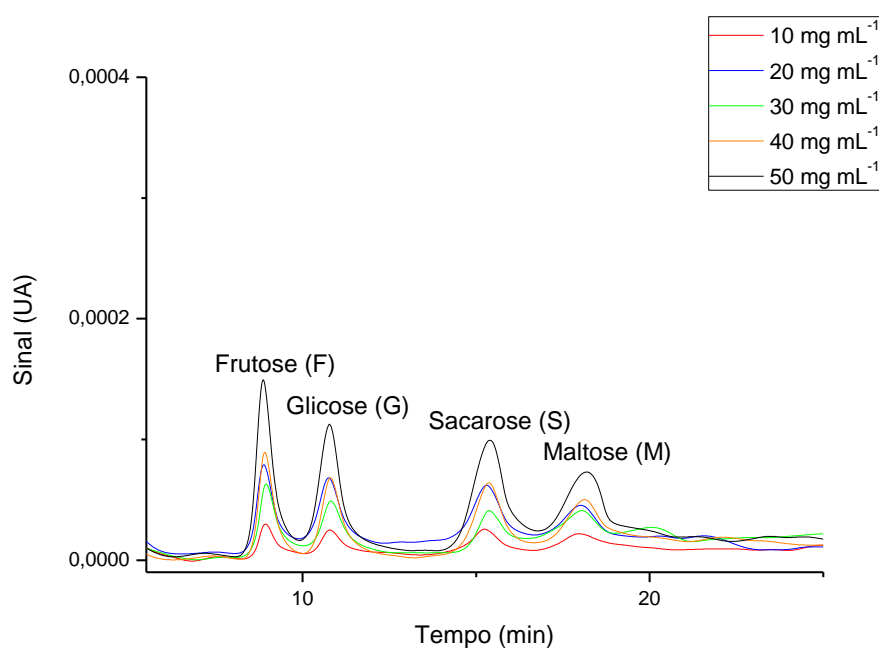


Figura 14. Cromatograma obtido por CLAE-IR para a construção da curva de calibração dos açúcares frutose, glicose, sacarose e maltose.

Entre os açúcares analisados, a glicose e a frutose são os primeiros a serem consumidos pelas leveduras, seguido pela sacarose e, por fim, a maltose (NELSON; COX, 2014). Sabe-se também que os açúcares presentes em maior quantidade no mosto cervejeiro são: maltose, seguida pela glicose, com frutose, sacarose e demais açúcares em concentrações menores (ABOUMRAD; BARCELLOS, 2015). Desta forma, se observa na **Tabela 13** que a frutose e a sacarose foram os açúcares que apresentaram as menores concentrações nos mostos analisados. A maltose, açúcar mais abundante no mosto, apresentou as maiores quantidades, seguida pela glicose, demonstrando estar em concordância com o observado na literatura.

Nota-se que as concentrações de todos os açúcares foram menores para os mostos das cervejas de baixo teor alcoólico em comparação com o mosto da cerveja padrão (**Tabela 13**). Quando se usou menor quantidade de malte obteve-se menos açúcares, bem como quando se utilizou o malte que passou pelo processo de peneiração. O uso da técnica de brassagem a frio também resultou em concentração menor dos açúcares fermentáveis, em comparação com a brassagem a quente.

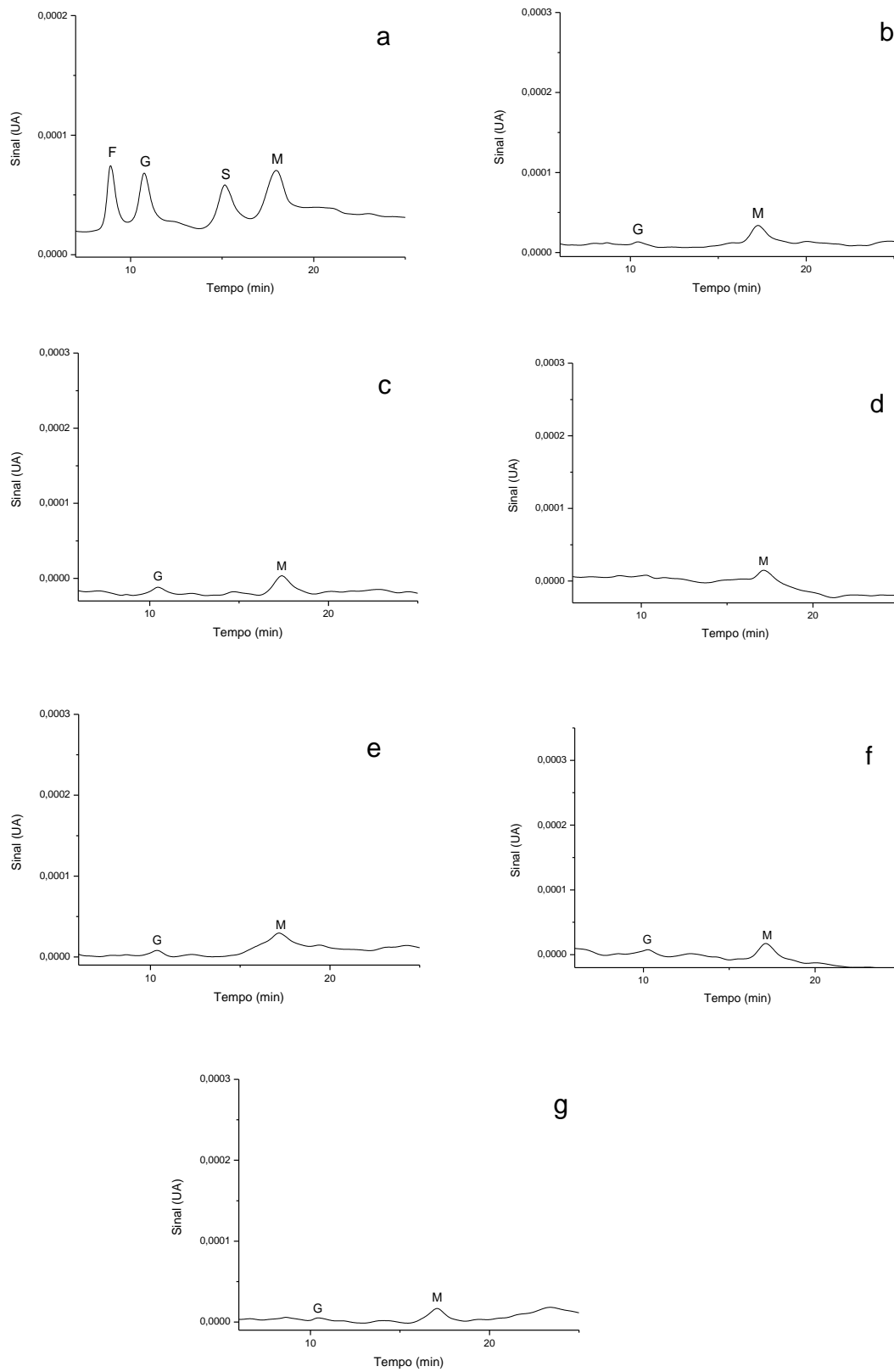


Figura 15. Cromatogramas obtidos por CLAE-IR para a quantificação de açúcares no mosto da cerveja padrão (a) e das cervejas de baixo teor alcoólico: QMP15 (b), QMP20 (c), FMP15 (d), FMP20 (e), FMO15 (f), FMO20 (g).

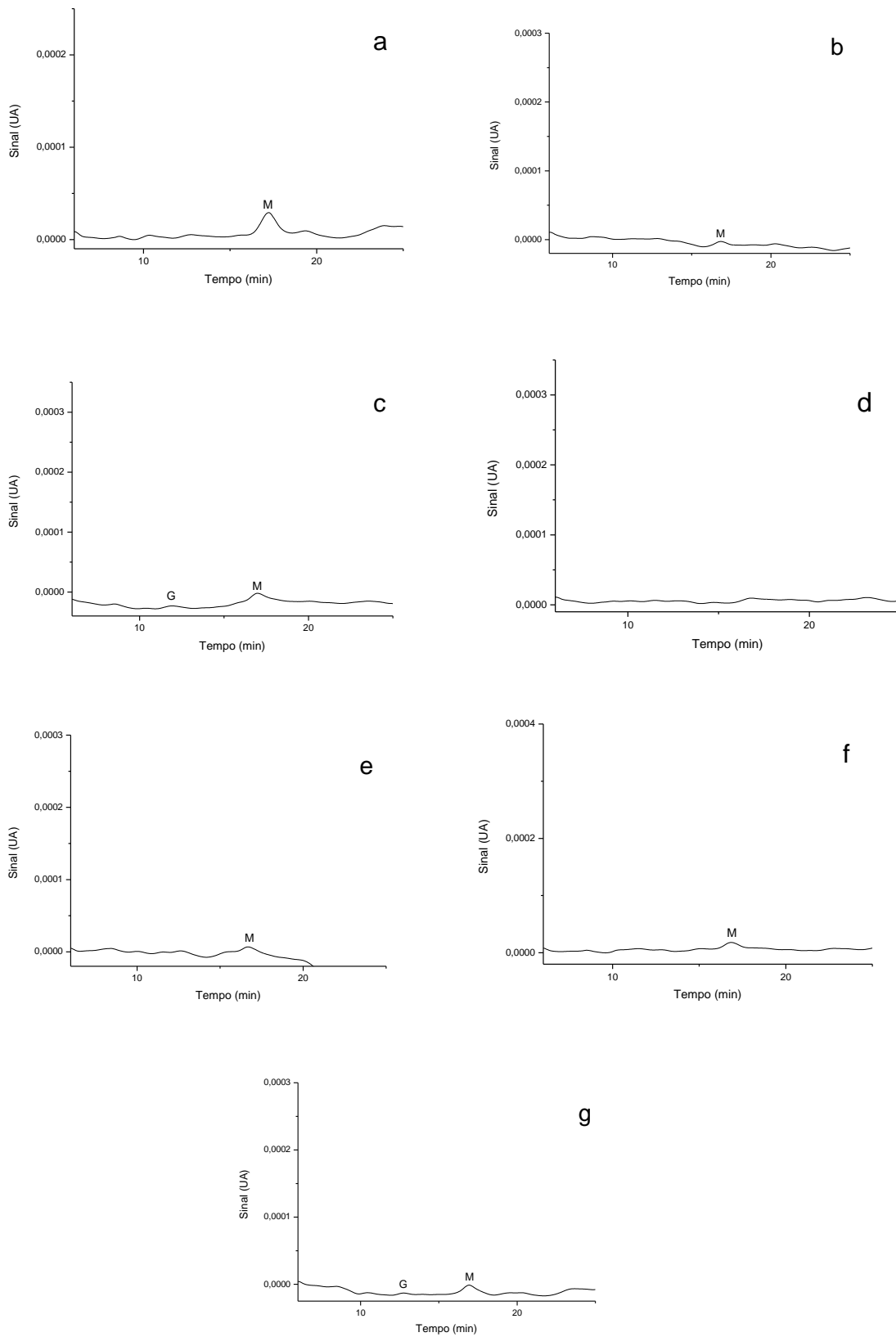


Figura 16. Cromatogramas obtidos por CLAE-IR para a quantificação de açúcares na cerveja padrão (a) e nas cervejas de baixo teor alcoólico: QMP15 (b), QMP20 (c), FMP15 (d), FMP20 (e), FMO15 (f), FMO20 (g).

A análise de variância de um fator (ANOVA) apresentou diferenças significativas entre as médias para a quantificação dos açúcares no mosto das cervejas, onde obteve-se $F_{obs} = 21,53$ e $p = 0,00$ para a frutose, $F_{obs} = 178,61$ e $p = 0,00$ para a glicose, $F_{obs} = 5,08$ e $p = 0,03$ para a sacarose e $F_{obs} = 16,62$ e $p = 0,00$ para a maltose maiores que $F_{crítico(6,7; 0,05)} = 4,21$.

De acordo com o metabolismo da *Saccharomyces cerevisiae*, a glicose é consumida em duas fases, o catabolismo (respiração aeróbica), onde ocorre a replicação celular, seguida pela fase do anabolismo (respiração anaeróbica), com a formação de etanol e gás carbônico. Por este motivo, o consumo da glicose ocorre primeiro, e há a tendência de sua concentração ser menor em relação a outros açúcares, como a maltose (NELSON; COX, 2014), e pode-se observar na **Tabela 13** que este comportamento ocorreu nas amostras deste estudo. Não se observa diferenças significativas entre as médias para a quantificação de glicose nas cervejas ($F_{obs} = 1,01$ e $p = 0,492$ menor que $F_{crítico(6,7; 0,05)} = 4,21$).

A frutose começa a ser consumida apenas após o esgotamento da glicose, portanto pode-se encontrar concentrações maiores de frutose ao final da fermentação. No mosto cervejeiro este açúcar está presente em quantidades inferiores, e desta forma, sua concentração poderá ser menor em relação a glicose mesmo sendo consumida posteriormente, podendo-se notar que isso ocorreu em todas as amostras estudadas (NELSON; COX, 2014; ABOUMRAD; BARCELLOS, 2015). As médias não apresentaram diferenças significativas em relação as concentrações de frutose, pois $F_{obs} = 1,00$ e $p = 0,492$ é menor que $F_{crítico(6,7; 0,05)} = 4,21$.

Em relação a sacarose, seu consumo ocorre após o esgotamento da glicose e da frutose, pois a levedura precisa realizar sua quebra em duas unidades menores, uma de glicose e uma de frutose, por meio de uma enzima denominada invertase. Assim como ocorre para a frutose, a sacarose é um açúcar que está em menor quantidade no mosto, portanto poderá apresentar concentração menor em relação a açúcares que são consumidos prioritariamente (NELSON; COX, 2014; ABOUMRAD; BARCELLOS, 2015). Por meio dos dados apresentados na **Tabela 13** para a concentração de sacarose nas amostras, é possível perceber a ocorrência do comportamento descrito para este açúcar, e também que não houve diferenças significativas entre as médias.

A maltose é o último açúcar a ser consumido, pois a levedura precisa sintetizar a enzima maltase para realizar sua quebra em duas unidades de glicose, portanto, este carboidrato é consumido após os outros açúcares fermentáveis terem se esgotado (NELSON; COX, 2014; ABOUMRAD; BARCELLOS, 2015). Aliado ao fato da maltose ser o açúcar mais abundante do mosto, esta é a razão pela qual as amostras de cerveja padrão e de cervejas

de baixo teor alcoólico apresentaram as maiores concentrações deste açúcar ao final da fermentação (**Tabela 13**). Não se observou diferenças significativas entre as médias para o teor de maltose ($F_{obs} = 1,04$ e $p = 0,471$ menor que $F_{crítico (6,7; 0,05)} = 4,21$).

Quando se compara o teor de açúcares fermentáveis do mosto de cada amostra com o teor de sólidos solúveis, que abrange os açúcares totais (fermentáveis e não fermentáveis), é possível notar diferenças consideráveis entre o mosto da amostra padrão e das amostras de baixo teor alcoólico. Na amostra padrão, observa-se na **Tabela 14** que o teor de açúcares totais inicial foi de 11 °Brix, equivalente a 110 mg mL⁻¹. O teor de açúcares fermentáveis do mosto (**Tabela 13**) era de 91,8 mg mL⁻¹, portanto, aproximadamente 9 °Brix foi a quantidade que realmente fermentou, sendo esse valor condizente com o teor alcoólico de 4,9 °GL obtido.

Utilizando como exemplo a amostra FMP20, se nota que ela possuía 5,80 °Brix no início da fermentação, o que corresponde a 58 mg mL⁻¹ de açúcares totais. A concentração de açúcares fermentáveis no mosto (**Tabela 13**) foi de cerca de 22,30 mg mL⁻¹, portanto, essa diferença demonstra que o mosto era constituído principalmente por açúcares não fermentáveis. Além disso, observa-se que o teor alcoólico obtido foi de 0,97 °GL, correspondente a um rendimento de fermentação de apenas 29%, e ao comparar com o rendimento da cerveja padrão (81%) tem-se mais um indício da predominância de açúcares não fermentáveis nesse mosto.

Tabela 14. Resultados obtidos para o teor de açúcares iniciais do mosto (sólidos solúveis), grau alcoólico e rendimento de fermentação das cervejas.

| Amostra | Sólidos solúveis (°Brix) | Grau alcoólico (°GL) | Rendimento de fermentação (%) |
|----------------|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|
| Padrão | 11,0 ± 0,0 | 4,93 ± 0,24 | 81,0 ± 2,1 |
| QMP15 | 6,0 ± 0,0 | 1,78 ± 0,20 | 54,0 ± 2,0 |
| QMP20 | 6,0 ± 0,0 | 2,00 ± 0,60 | 61,0 ± 3,0 |
| FMP15 | 5,7 ± 0,2 | 1,15 ± 0,00 | 37,0 ± 2,1 |
| FMP20 | 5,8 ± 0,2 | 0,97 ± 0,03 | 29,0 ± 1,9 |
| FMO15 | 6,0 ± 0,0 | 2,35 ± 0,07 | 67,0 ± 2,8 |
| FMO20 | 5,7 ± 0,2 | 1,45 ± 0,28 | 46,0 ± 2,6 |

Outro exemplo está na amostra QMP15, que possuía 60 mg mL^{-1} de açúcares totais e cerca de $35,25 \text{ mg mL}^{-1}$ de açúcares fermentáveis no mosto. Seu teor alcoólico foi de $1,78 \text{ }^\circ\text{GL}$, com rendimento de fermentação de 54%, indicando também que o mosto era constituído predominantemente por açúcares não fermentáveis. Observa-se que este comportamento ocorreu para todas as amostras de cerveja de baixo teor alcoólico, e isso indica que as alterações realizadas no processo de produção influenciaram na composição do mosto. Desta forma, existe a possibilidade de se obter um mosto cervejeiro com menor proporção de açúcares fermentáveis e conseqüentemente cervejas com menor teor alcoólico, por meio de um controle na etapa de brassagem, ao mesmo tempo em que se mantém as características sensoriais desejáveis para a cerveja.

5.6.2 Determinação de HMF por CLAE-UV

Levando-se em consideração os efeitos nocivos do HMF para os seres humanos, fez-se sua análise por CLAE-UV para quantificação nas amostras, e os valores obtidos são apresentados na **Tabela 15**.

Tabela 15. Valores obtidos pela equação da reta para os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para o HMF e quantificação nas amostras de cerveja.

| Parâmetros | HMF ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | Amostra | HMF ($\mu\text{g mL}^{-1}$) |
|----------------------------|----------------------------------|---------|----------------------------------|
| Limite de Detecção | 0,32 | Padrão | <LD |
| | | QMP15 | <LD |
| | | QMP20 | <LD |
| Limite de Quantificação | 1,10 | FMP15 | <LD |
| | | FMP20 | <LD |
| | | FMO15 | <LD |
| | | FMO20 | <LD |

<LD: menor que o limite de detecção.

Os cromatogramas obtidos para a construção da curva de calibração e para a quantificação do HMF nas amostras são apresentados na **Figuras 17 e 18**. O tempo de retenção observado para o composto foi de aproximadamente 8 minutos.

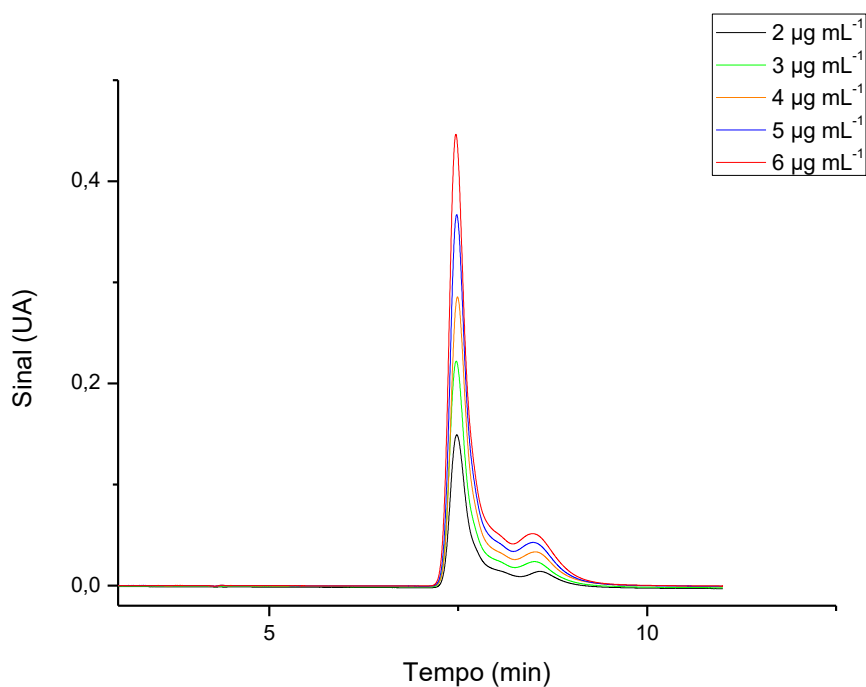


Figura 17. Cromatograma obtido por CLAE-UV para a construção da curva de calibração do HMF.

Observa-se que o composto HMF não foi detectado em nenhuma das amostras, tanto da cerveja padrão quanto para as de baixo teor alcoólico. Durante a etapa de fermentação, o HMF é metabolizado pela *Saccharomyces*, e se obtém o álcool 2,5-bis-hidroximetilfuranílico (SEHNEM *et al.*, 2013). Como se utilizou leveduras de baixa fermentação em condições ideais em todas as amostras, permitiu-se que essa conversão ocorresse de maneira adequada, sendo possível o HMF não estar presente em quantidade detectável pela técnica cromatográfica utilizada.

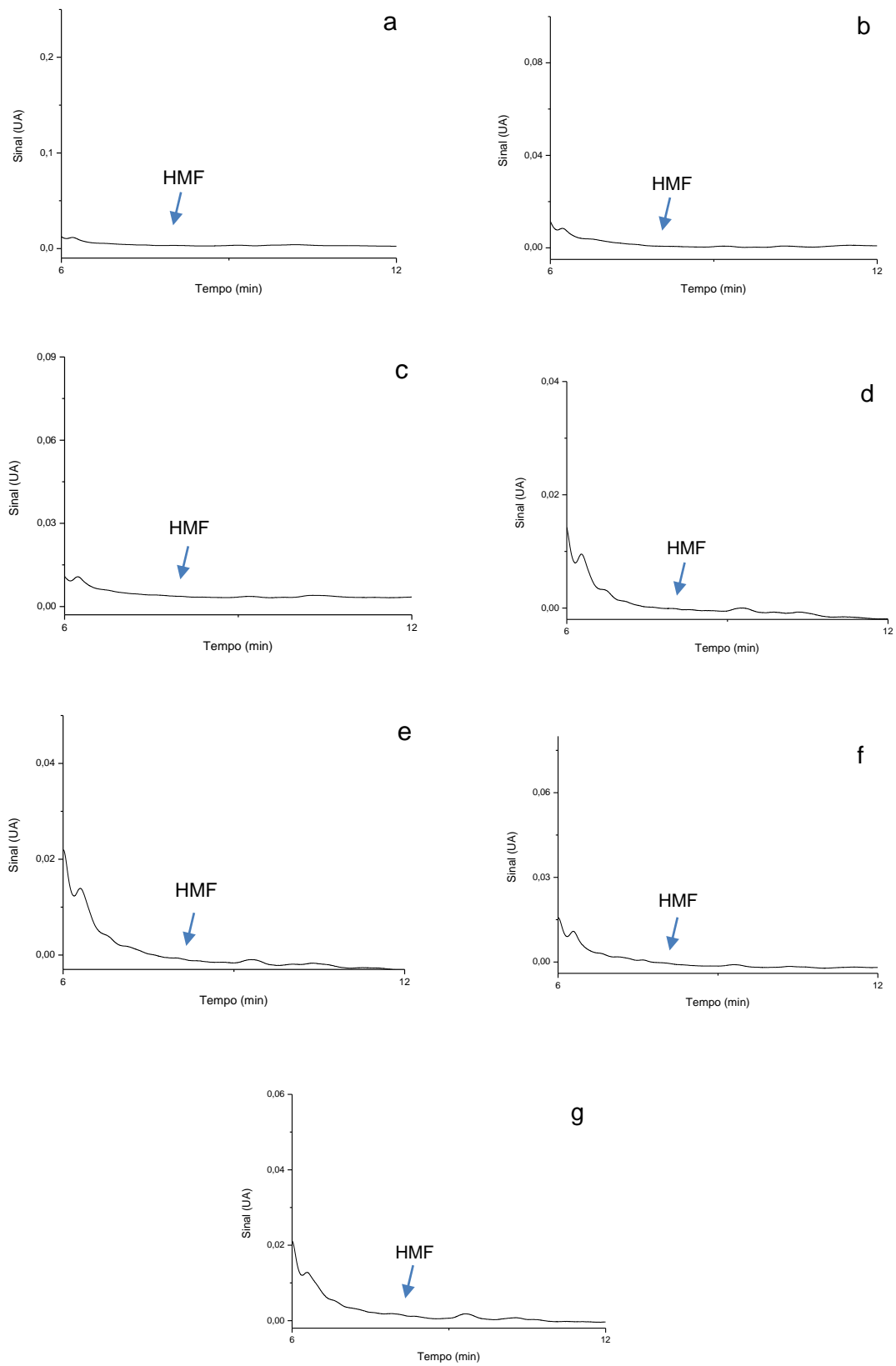


Figura 18. Cromatogramas obtidos por CLAE-UV para a quantificação de HMF na amostra de cerveja padrão (a) e nas amostras de cerveja de baixo teor alcoólico: QMP15 (b), QMP20 (c), FMP15 (d), FMP20 (e), FMO15 (f), FMO20 (g).

Por se tratar de um composto que apresenta toxicidade elevada, a não detecção de HMF nas amostras representa um aspecto positivo. Como a sua formação ocorre pela desidratação de açúcares em meio ácido, a inexistência do composto em quantidade detectável nas cervejas indica que não houve degradação do produto (NIEMES, ROSA, FELSNER, 2016). Também se observa que as formulações de baixo teor alcoólico apresentaram menor concentração de açúcares, devido as mudanças realizadas no processo de produção, acarretando em um processamento que favorece baixas quantidades de HMF.

Os resultados encontrados para o teor de HMF na cerveja padrão e nas cervejas de baixo teor alcoólico são inferiores aos encontrados por Kutkoski (2018), que relata em seu estudo concentrações entre 0,45 e 0,69 mg L⁻¹ de HMF em cervejas pilsen.

5.7 CONCLUSÕES PARCIAIS

A análise do perfil de açúcares fermentáveis nos mostos indicou diferenças na sua composição, prevalecendo os açúcares não fermentáveis, acarretando o teor alcoólico menor nas cervejas em relação a amostra padrão. Com isso, torna-se possível o controle da proporção entre açúcares fermentáveis e não fermentáveis no mosto das cervejas, propiciando a obtenção da quantidade desejável de álcool.

Não se detectou o composto HMF nas amostras estudadas, portanto os resultados se mostram adequados para este parâmetro, visto que este composto apresenta alta toxicidade e é um indicativo de degradação de alimentos. Foi possível notar que as alterações realizadas na etapa de brassagem para a produção das cervejas não teve influência em relação a concentração de HMF.

5.8 REFERÊNCIAS

- ABOUMRAD, J. P. C.; BARCELLOS, Y. C. M. **Análise e Simulação das Operações de Mosturação e Fermentação no Processo de Produção de Cervejas**. 2015. 82 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2015.
- ANDRADE, J. K. DE et al. In house validation from direct determination of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) in Brazilian corn and cane syrups samples by HPLC – UV. **Food Chemistry**, v. 190, p. 481–486, 2016.
- ARAÚJO, P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 877, n. 23, p. 2224–2234, 2009.
- ICH. Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Methodology. n. November 1996, p. 9, 1996.
- KUTKOSKI, R. F. **Caracterização físico-química de cerveja produzida em uma Micro Cervejaria da região de Guarapuava – PR**. Dissertação (Mestrado em Química). p. 106, 2018. Guarapuava. Universidade Estadual do Centro-Oeste, 2018.
- MINITAB. **Minitab Incorporation, USA.**, 2010.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**: 6 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2014.
- NIEMES, J. P. **Fermentação de diferentes méis, melado de cana e xarope de glicose: acompanhamento do perfil químico, análise do teor de fenólicos e atividade antioxidante**. Tese (Doutorado em Química). p. 83, 2018. Guarapuava. Universidade Estadual do Centro Oeste, 2018.
- NIEMES, J. P.; ROSA, M. R. DA; FELSNER, M. L. **Hidromel - Preparação e caracterização de diferentes tipos**: 1 ed. Saarbrücken: Novas Edições Acadêmicas, 2016.
- SEHNEM, N. T.; MACHADO, A. S.; LEITE, F. C. B.; PITA, W. B.; MORAIS, M. A.; AYUB, M. A. Z. 5-Hydroxymethylfurfural induces ADH7 and ARI1 expression in tolerant industrial *Saccharomyces cerevisiae* strain P6H9 during bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 190-196, 2013.

CAPÍTULO 6: ANÁLISE SENSORIAL

6. ANÁLISE SENSORIAL

6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa teve seu projeto submetido à apreciação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Centro-Oeste – Unicentro/PR (parecer nº 3.720.113). A análise foi realizada no laboratório de análise sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da Unicentro. Os participantes foram orientados quanto aos procedimentos e a proteção de sua privacidade, e demonstraram seu consentimento ao assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexos A e B), conforme a Resolução nº196/96 do Ministério da Saúde (Brasil, 2003).

As amostras de cerveja foram submetidas à avaliação sensorial para averiguar a preferência, perfil de atributos e testes de preferência. Os julgadores realizaram os testes em cabines individuais, com luz branca, em temperatura ambiente. Cada julgador recebeu as amostras de cerveja em copos de plástico transparentes e descartáveis, devidamente rotuladas e codificadas com algarismos de três dígitos escolhidos de forma aleatória, contendo aproximadamente 20 mL, água mineral e biscoito do tipo *cream cracker* para a limpeza das papilas gustativas entre a avaliação de cada amostra. A ficha do teste correspondente se encontra no Anexo C.

Foram apresentados quatro tipos de amostras de cerveja para apreciação dos provadores. O perfil de atributos foi constituído pela avaliação da aparência, aroma e sabor, com notas de 1 a 5. Os testes de preferência consistiram na frequência de consumo, com 7 pontos de escolha, e de qualidade, com 5 pontos.

6.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para investigar diferenças significativas nos atributos avaliados para a amostra de cerveja padrão e formulações de baixo teor alcoólico, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de um fator. Toda a análise estatística foi realizada no nível de 95% de confiança, e o teste de Tukey ao nível de 5% de significância utilizando o software Minitab v. 16.2.2 (MINITAB, 2010).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise sensorial foi realizada para avaliar a aceitação das cervejas de baixo teor alcoólico e compará-las com uma amostra padrão. Para as amostras de baixo teor alcoólico, foram escolhidas as formulações com diferentes modificações na etapa de brassagem a fim de se verificar possíveis alterações nas características sensoriais. Desta forma, as amostras selecionadas foram, além da cerveja padrão, QMP20, FMP20 e FMO20, que são apresentadas, respectivamente, na **Figura 19**.

Além disso, decidiu-se utilizar a concentração de malte de 200 gL^{-1} para todas as cervejas, pois em uma análise prévia observou-se que estas apresentaram coloração mais intensa, mais corpo e sabor mais pronunciado, ao mesmo tempo em que o teor alcoólico se manteve adequado, abaixo de $2,5 \text{ }^\circ\text{GL}$.

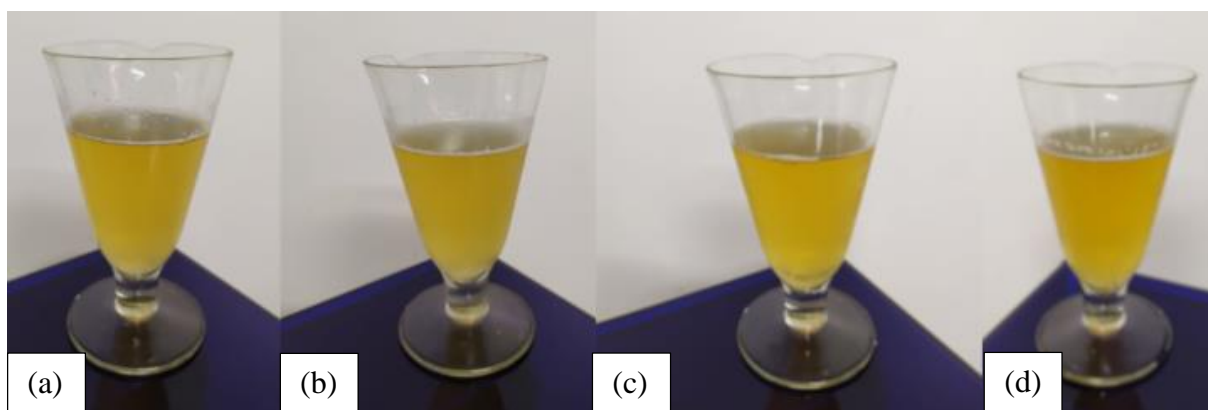


Figura 19. Amostras utilizadas para a análise sensorial: (a) cerveja padrão, (b) QMP20, (c) FMP20 e (d) FMO20.

Entre os 60 participantes, 21 foram homens e 39 foram mulheres, com uma faixa etária compreendida entre 18 e 55 anos. As porcentagens para idade e gênero são apresentadas na **Figura 20**.

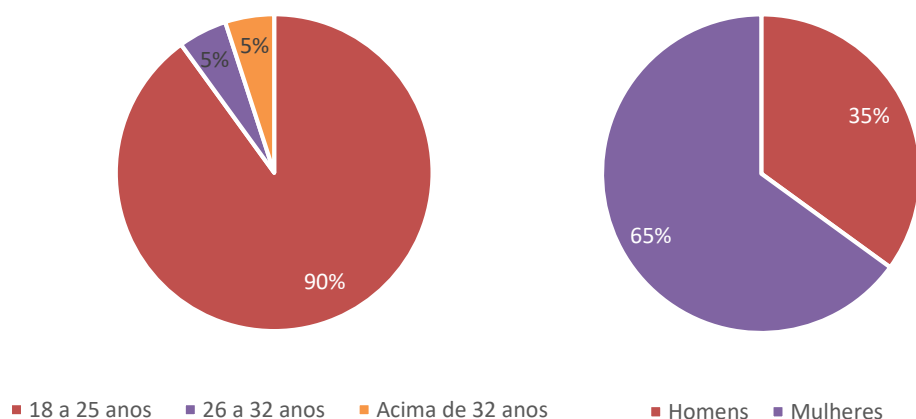


Figura 20. Porcentagem de participantes divididos por faixa etária e por gênero.

A **Tabela 16** apresenta as notas obtidas para os atributos sensoriais de aparência, aroma e sabor avaliados, onde a escala de notas ia de 1 a 5, sendo “1” para “péssimo” e “5” para “excelente”.

Tabela 16. Notas obtidas para os atributos sensoriais avaliados na cerveja padrão e cervejas de baixo teor alcoólico.

| Atributo | Padrão* | QMP20* | FMP20* | FMO20* |
|------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Aparência | 3,47 ± 1,15 ^c | 3,76 ± 1,01 ^{b,c} | 4,12 ± 0,79 ^{a,b} | 4,27 ± 0,87 ^a |
| Aroma | 3,59 ± 1,18 ^a | 3,25 ± 1,27 ^a | 3,46 ± 1,10 ^a | 3,61 ± 1,05 ^a |
| Sabor | 3,63 ± 1,29 ^a | 2,88 ± 1,33 ^b | 3,63 ± 1,08 ^a | 3,90 ± 0,87 ^a |

* Letras iguais para cada parâmetro indicam que não existem diferenças significativas a 95% de confiança por meio da aplicação do teste de comparação múltipla de médias de Tukey.

Para o atributo aparência, observa-se que as amostras FMP20 e FMO20 não possuem diferenças significativas entre si, mas são diferentes de QMP20 e da cerveja padrão ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$ e valor de $p < 0,05$). Desta forma, as notas atribuídas para as cervejas que utilizam brassagem a frio para o atributo aparência foram superiores, demonstrando que esta técnica alcançou resultados satisfatórios ao trazer coloração mais intensa. Em relação ao aroma, não houve diferenças significativas entre as amostras ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$ e valor de $p > 0,05$), e as notas recebidas foram de aproximadamente 3,5, indicando que o aroma das cervejas pode ser melhorado.

O atributo sabor apresentou notas estatisticamente iguais para a cerveja padrão, FMP20 e FMO20, e apenas a amostra QMP20 obteve nota inferior em relação as demais ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$ e valor de $p < 0,05$). Assim, observa-se que o perfil de atributos de duas formulações de baixo teor alcoólico se mostrou igual ao da cerveja padrão, chegando a ser superior para o atributo aparência, portanto as modificações realizadas para a obtenção de um grau alcoólico menor alterou de forma positiva as características sensoriais destas cervejas.

Na **Tabela 17** estão apresentadas as notas para a frequência de consumo das amostras, onde a escala varia de 1 a 7, sendo “1” para “nunca consumiria” e “7” para “consumiria sempre”, e as notas para a qualidade das cervejas em comparação com aquela que os participantes costumam consumir, com uma escala de 1 a 5, sendo “1” para “qualidade muito inferior”, “3” para “qualidade semelhante” e “5” para “qualidade muito superior”.

Tabela 17. Notas obtidas para a frequência de consumo e a qualidade da cerveja padrão e cervejas de baixo teor alcoólico.

| Teste de preferência | Padrão* | QMP20* | FMP20* | FMO20* |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Frequência de consumo | 4,60 ± 1,78 ^a | 3,55 ± 1,88 ^b | 4,61 ± 1,40 ^a | 4,73 ± 1,44 ^a |
| Qualidade da cerveja | 2,97 ± 1,01 ^a | 2,37 ± 1,19 ^b | 3,17 ± 1,06 ^a | 3,15 ± 0,93 ^a |

* Letras iguais para cada parâmetro indicam que não existem diferenças significativas a 95% de confiança por meio da aplicação do teste de comparação múltipla de médias de Tukey.

Ambos os testes de preferência avaliados se mostraram estatisticamente iguais para as amostras padrão, FMP20 e FMO20, sendo apenas a amostra QMP20 diferente das demais ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$ e valor de $p < 0,05$), assim, é possível notar que esta cerveja obteve avaliações inferiores quando comparada as demais, podendo-se dizer que foi a que menos agradou ao público participante.

O teste realizado para a frequência de consumo apresentou notas próximas de 5 para a cerveja padrão e para as duas formulações de baixo teor alcoólico (FMP20 e FMO20), referente a “consumiria frequentemente” na escala de 7 pontos. A **Figura 21** apresenta a porcentagem de participantes para cada ponto avaliado na escala de consumo. Observa-se que a cerveja padrão teve as maiores porcentagens nos pontos 4, 6 e 7, e as amostras FMP20 e FMO20 nos pontos 4, 5 e 6. A cerveja QMP20 obteve grande porcentagem para o ponto 1, correspondente a “nunca consumiria”, bem como para os pontos 3 e 4, representando a amostra menos aceita na avaliação.

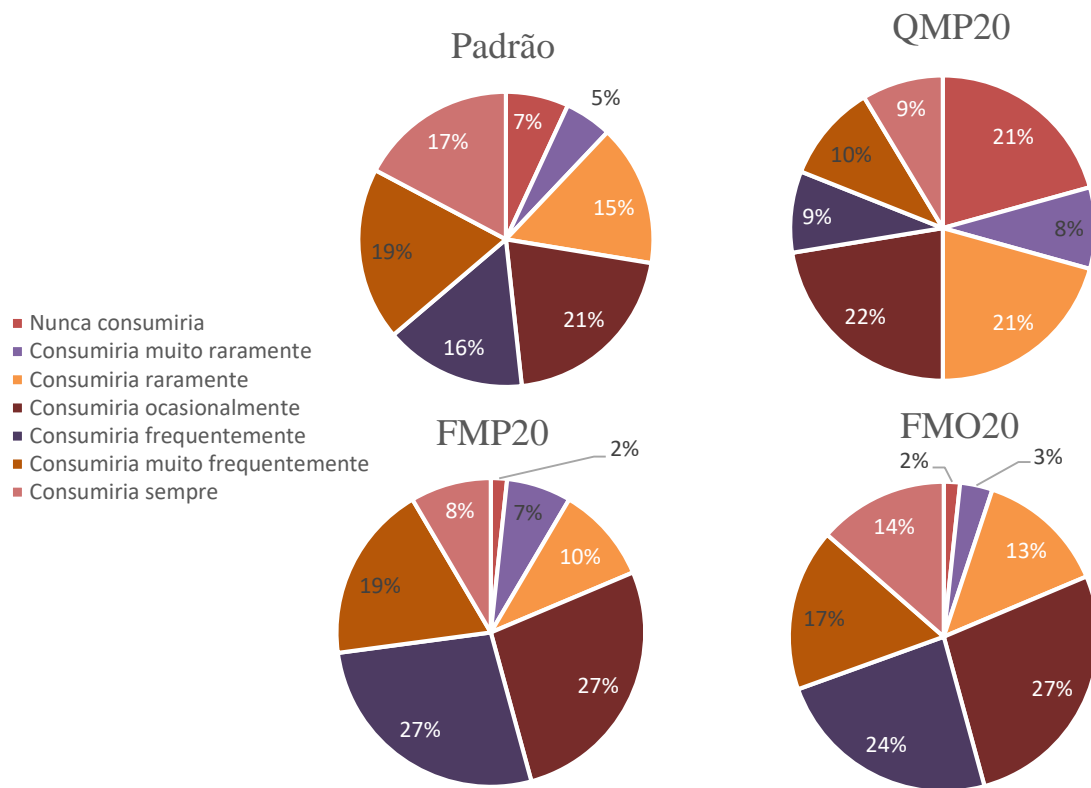


Figura 21. Frequência de consumo para as cervejas avaliadas em porcentagem de participantes.

A avaliação da qualidade da cerveja, que foi feita por meio da comparação com a cerveja que cada participante costuma consumir, obteve nota próxima de 3 para a cerveja padrão e para as duas formulações de baixo teor alcoólico (FMP20 e FMO20), onde as notas variavam de 1 a 5. Essa nota se refere a uma qualidade semelhante à da cerveja normalmente consumida pelo público, o que significa que as amostras poderiam ser escolhidas para o consumo regular.

A **Figura 22** apresenta o gráfico para a porcentagem de participantes para cada ponto avaliado na escala de qualidade. Observa-se que a cerveja padrão, a FMP20 e a FMO20 tiveram as maiores porcentagens nos pontos 3 e 4, que corresponde a “qualidade semelhante” e “qualidade superior”. Uma avaliação para “qualidade muito superior” (ponto 5) mostra que as duas cervejas de baixo teor alcoólico FMP20 e FMO20 possuem porcentagem maior em

comparação com a cerveja padrão, indicando maior preferência e melhor qualidade para as cervejas com menor quantidade de álcool.

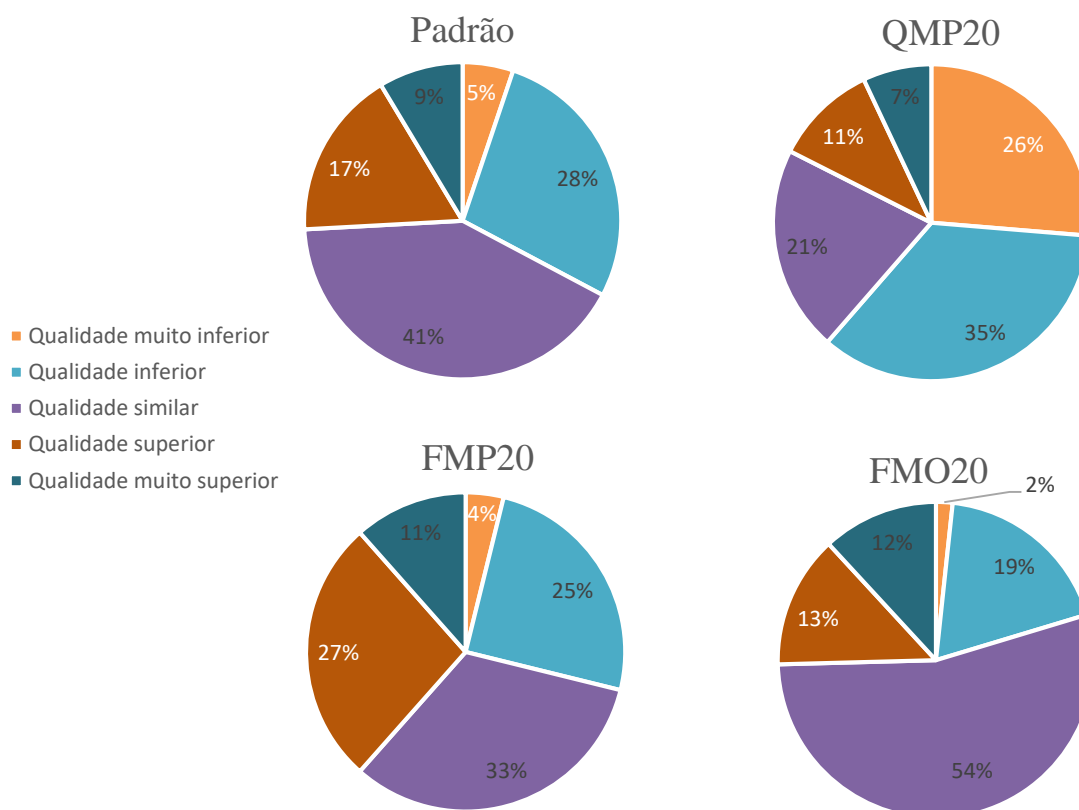


Figura 22. Qualidade das cervejas avaliadas em porcentagem de participantes.

A cerveja QMP20 obteve grande porcentagem para o ponto 1, correspondente a “qualidade muito inferior”, e para o ponto 2, “qualidade inferior”, portanto se reafirma como a amostra menos aceita na avaliação.

Os participantes da análise sensorial foram questionados sobre qual amostra de cerveja consideraram como a melhor, e os resultados obtidos encontram-se na **Figura 23** na forma de porcentagem de participantes. Observa-se na **Figura 23 (a)** que 33% dos consumidores tiveram preferência pela cerveja padrão, com grau alcoólico de aproximadamente 5 °GL, enquanto 67% optaram por uma cerveja de baixo teor alcoólico, que possui no máximo 2,5 °GL. Desta forma, a cerveja com menor quantidade de álcool teve uma boa aceitação, representando um novo produto similar a cervejas tradicionais a ser inserido no mercado.

A **Figura 23 (b)** traz a preferência dos participantes por cada uma das quatro formulações apresentadas, sendo possível observar que a amostra padrão e a FMP20 tiveram porcentagem de escolha similar, com 33,3 e 31,7% respectivamente, indicando ser esta a cerveja de baixo teor alcoólico que mais se aproximou da tradicional de acordo com o público participante. A amostra FMO20 também se mostra bem aceita, com 26,7% de preferência, e a QMP20 obteve apenas 8,3% de escolha como a melhor, mostrando-se como a menos agradável e possivelmente a formulação que menos se aproxima da cerveja padrão.

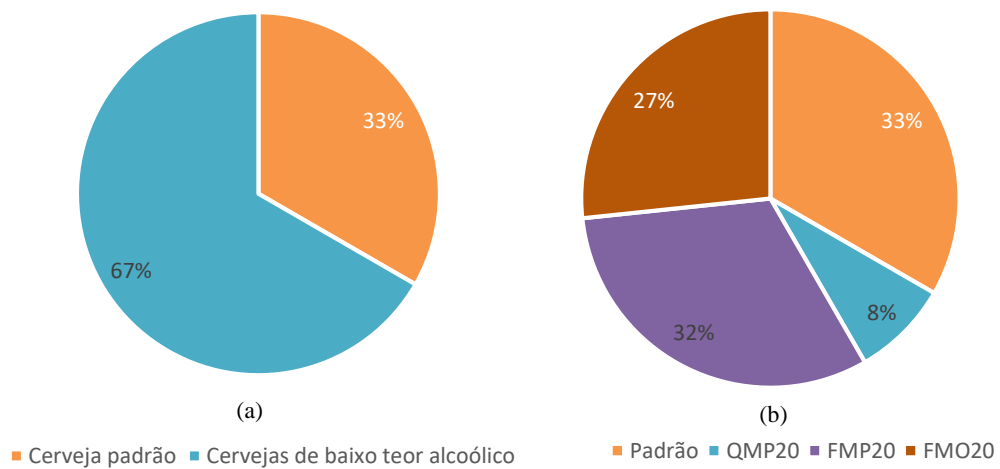


Figura 23. Preferência dos participantes quanto a (a) cerveja padrão ou cerveja de baixo teor alcoólico e (b) cerveja padrão e cada formulação de baixo teor alcoólico.

6.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

A realização de uma análise sensorial apontou uma boa aceitação para as cervejas de baixo teor alcoólico, onde as notas dadas aos atributos sensoriais se mostraram iguais ou superiores as da cerveja padrão. Os testes de preferência demonstraram que duas formulações com menor quantidade de álcool são estatisticamente iguais a amostra padrão, e uma terceira formulação mostrou-se inferior as demais. A escolha da melhor amostra por cada um dos participantes resultou em 33% de preferência pela cerveja padrão e 67% optando por uma cerveja com baixo teor alcoólico, onde, entre estas, a amostra FMP20 recebeu o maior número de votos, sendo considerada a favorita do público participante.

Entre os consumidores que participaram da análise sensorial, a grande maioria (90%) possuíam idade entre 18 e 25 anos, o que indica que um número significativo de jovens teve preferência por bebidas com teor alcoólico menor, representando uma possível diminuição na quantidade de álcool a ser ingerida caso essa cerveja seja comercializada.

6.5 REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Normas para pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução CNS no 196/96 e outras). 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 64 p.

MINITAB. **Minitab Incorporation, USA.**, 2010.

CAPÍTULO 7: CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

A realização deste estudo demonstrou a possibilidade de se desenvolver cervejas com baixo teor alcoólico com características semelhantes às cervejas do estilo pilsen que foram preparadas de maneira tradicional. Isso se deve à similaridade observada nos resultados encontrados em todas as análises feitas tanto para uma cerveja pilsen padrão quanto para as cervejas com baixa graduação alcoólica, as quais foram obtidas por meio de diferentes modificações na etapa de brassagem do processo tradicional.

Análises físico-químicas demonstraram semelhanças com a cerveja padrão e o parâmetro de teor alcoólico se apresentou menor nas cervejas com baixa graduação alcoólica, que foram decorrentes das mudanças realizadas. O perfil cromatográfico para açúcares residuais apontou possíveis diferenças na proporção de açúcares fermentáveis e não fermentáveis, o que exerce grande influência no teor alcoólico. A análise sensorial realizada resultou em boa aceitação para três cervejas, sendo uma delas padrão e duas de baixo teor alcoólico.

A maioria dos consumidores demonstraram preferência por formulações que continham menor quantidade de álcool, sendo elas a FMO20 e FMP20, indicando ser semelhante ou superior a cerveja tradicional nos aspectos sensoriais. Visto que a amostra FMP20 obteve a maior porcentagem de preferência, é possível optar por esta fórmula para se obter uma cerveja que conserve as características principais do estilo pilsen, mas que possua um baixo teor alcoólico.

ANEXOS

Anexo A: Termo de consentimento entregue aos participantes da análise sensorial.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezado (a) colaborador (a),

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa de uma PRODUÇÃO DE CERVEJA PILSEN DE BAIXO TEOR ALCOÓLICO, sob a responsabilidade da pesquisadora GABRIELA DALBERTO, que irá investigar a sua aceitação.

O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo COMEP/UNICENTRO.

DADOS DO PARECER DE APROVAÇÃO

Emitido Pelo Comitê de Ética em Pesquisa, COMEP-UNICENTRO

Número do parecer: 3.720.113

Data da relatoria: 22/11/2019

1. PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA: Essa pesquisa tem por objetivo a elaboração de uma cerveja de baixo teor alcoólico com características sensoriais, como cor e sabor, semelhantes a uma cerveja de graduação alcoólica tradicional com o intuito de disponibilizar ao mercado cervejeiro uma nova opção de produto. Ao participar desta pesquisa será necessário que você disponibilize alguns minutos para que seja realizada a degustação do produto, e você responderá a um questionário, onde estará informando se gostou ou não do mesmo. Sua identidade será mantida em sigilo, ou seja, seus dados não serão divulgados. Sua participação neste estudo é voluntária e caso decida participar, terá total liberdade para desistir do estudo a qualquer momento mesmo após ter iniciado os testes sensoriais, sem nenhum prejuízo para você.

2. RISCOS E DESCONFORTOS: Este procedimento apresenta riscos mínimos, porém para pessoas portadoras de diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares, doenças do sistema digestivo e para pessoas que já tiveram ou tem problema relacionado ao fígado, doenças neurológicas, psiquiátricas, pessoas que fazem uso contínuo de medicação e ou estão fazendo uso, e se for alérgico a algum tipo de alimento, ou ainda se você for menor de 18 anos, assim se você se enquadra em pelo menos um desses casos, por favor, relate imediatamente à pesquisadora. Por mais que ingerida em pequenas quantidades, o álcool pode anular o efeito de medicação, pode causar dependência e pode desencadear alguns efeitos colaterais como: Dor de cabeça, enjoo, mal-estar. Após a sua participação, você não deverá e não poderá fazer uso do volante devido ao álcool, pois, com a Lei Seca, quem for flagrado

dirigindo após ter ingerido mesmo que uma pequena quantidade, é penalizado. Mesmo que não seja pego em uma blitz, quem bebe e dirige corre o risco de morrer ou matar outras pessoas por falta de reflexo na direção. Não poderá operar máquinas ou exercer qualquer outra função que apresentem risco a sua vida. Por conter teor alcoólico mesmo que baixo, em torno de 2,5%, é necessário lembra-lo (a) para beber com moderação e que não deve dirigir após a análise, e ainda que: "O consumo de álcool inibe os reflexos e reduz a capacidade para dirigir e operar máquinas", "O consumo de álcool pode causar dependência e diversos malefícios à saúde", "O consumo de álcool deve ser evitado durante toda a gravidez e amamentação". Ainda, a pesquisadora se responsabiliza por prestar assistência integral, imediata e gratuita ao participante em caso de qualquer intercorrência.

3. BENEFÍCIOS: Os benefícios esperados com esse estudo são o de apresentar aos consumidores um novo tipo de produto, pois comercialmente não se observa uma cerveja de baixo teor alcoólico que conserve as características encontradas nas cervejas tradicionais, ou seja, que possua sabor, odor, cor e corpo semelhantes. A cerveja é uma bebida que, se ingerida com cautela e moderação, pode trazer benefícios ao organismo, visto que é rica em vitaminas, polifenóis (antioxidantes), minerais, sendo fonte de nutrientes e fibras. Grande parte desses nutrientes são provenientes do malte, e na composição da cerveja também está o lúpulo, que é uma planta com propriedades antibióticas e anti-inflamatórias. Outro benefício está na menor quantidade de álcool que esta bebida apresenta por se tratar de uma cerveja de baixo teor alcoólico, sendo o teor máximo de 2,5%, enquanto uma cerveja tradicional possui em torno de 5% de álcool.

4. CONFIDENCIALIDADE: Todas as informações que o (a) Sr. (a) nos fornecer ou que sejam conseguidas por meio da ficha de análise sensorial serão utilizadas somente para esta pesquisa. Seus (Suas) respostas e dados pessoais ficarão em segredo e o seu nome não aparecerá em lugar algum das fichas de avaliação nem quando os resultados forem apresentados.

5. ESCLARECIMENTOS: Se tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa e/ou dos métodos utilizados na mesma, pode procurar a qualquer momento o pesquisador responsável.

| |
|---|
| Nome do pesquisador responsável: Gabriela Dalberto Endereço: Simeão Varela de Sá 03 – Campus CEDETEG – Departamento de Química, laboratório de pesquisa em Química Orgânica. Telefone para contato: (42) 99112-6262 Horário de atendimento: 8h – 12h e das 13:30 – 17:30 |
|---|

6. RESSARCIMENTO DAS DESPESAS: Caso o (a) Sr. (a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira.

7. CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO: Se o (a) Sr. (a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue, em duas vias, sendo que uma via ficará com você.

Anexo B: Termo de consentimento assinado pelos participantes da análise sensorial.

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, portador (a) da cédula de identidade_____, declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas, esclarecer dúvidas que foram devidamente explicadas pelos pesquisadores, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente desta pesquisa.

E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Guarapuava, _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante

Assinatura do Pesquisador

Anexo C: Ficha utilizada nos testes de aceitação da análise sensorial.

Idade: _____ Sexo: Feminino () ou Masculino () Data: __/__/____

Você está recebendo amostras de cerveja pilsen puro malte. Avalie as amostras que você recebeu com relação aos atributos a seguir, sendo escore “1” para “péssimo” e “5” para “excelente”:

| ATRIBUTOS | 1 | 2 | 3 | 4 |
|------------------|------|------|------|------|
| | NOTA | NOTA | NOTA | NOTA |
| Aparência | | | | |
| Aroma | | | | |
| Sabor | | | | |

Comentários:

Avalie cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar com qual frequência você consumiria cada uma das amostras.

| | AMOSTRA | NOTA |
|--|---------|-------|
| 7 – Consumiria sempre | | |
| 6 – Consumiria muito frequentemente | _____ | _____ |
| 5 – Consumiria frequentemente | _____ | _____ |
| 4 – Consumiria ocasionalmente | _____ | _____ |
| 3 – Consumiria raramente | _____ | _____ |
| 2 – Consumiria muito raramente | | |
| 1 – Nunca consumiria | | |

Em comparação com a cerveja que **você** costuma consumir, avalie cada uma das amostras codificadas. Use a escala abaixo para indicar se as amostras têm qualidade similar, inferior ou superior à da cerveja que você normalmente consome.

| | AMOSTRA | NOTA |
|-------------------------------------|---------|-------|
| 5 – Qualidade muito superior | _____ | _____ |
| 4 – Qualidade superior | _____ | _____ |
| 3 – Qualidade similar | _____ | _____ |
| 2 – Qualidade inferior | _____ | _____ |
| 1 – Qualidade muito inferior | _____ | _____ |

Entre as amostras que você provou, qual você considera a melhor? _____