

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE - UNICENTRO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

GUILHERME PIMPÃO CAVALCANTE

**Produção de cerveja *Pilsen* com adição de diferentes matérias-primas amargas da região
Sul do Brasil.**

Guarapuava
2016

GUILHERME PIMPÃO CAVALCANTE

Produção de cerveja *Pilsen* com adição de diferentes matérias-primas amargas da região Sul do Brasil.

Dissertação apresentada sob orientação do prof. Dr. Marcos Roberto da Rosa, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química, pelo Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, na Universidade Estadual do Centro-Oeste

Orientador: Prof. Dr. Marcos Roberto da Rosa

Guarapuava

2016

Fé é acreditar naquilo que não se pode ver nem tocar.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente quero agradecer a minha mãe Maria Emília por me apoiar mesmo nos momentos mais difíceis. Agradeço a minha avó por sempre estar me aconselhando, não somente nos problemas relacionados à química, mas também entre várias outras dificuldades. Também quero agradecer a toda minha família por estar junto comigo, me animando todos os dias e principalmente nos domingos e feriados.

A minha namorada Andressa por sempre me dar forças e me apoiar nos momentos de dificuldade. Ajudou-me muito durante essa etapa. Também peço desculpas pelos momentos em que estive estressado pelo mestrado.

Aos meus amigos por fazerem momentos difíceis se tornarem simples.

A professora Luciana Boer, aos professores Luciano Fernandes, Eduardo e ao técnico de laboratório Luciano pelo auxílio durante as análises cromatográficas na UTFPR, campus Ponta Grossa.

Ao professor, orientador e amigo Marcos Roberto da Rosa, pelos conselhos, pela atenção, pela paciência nos momentos complicados durante o período do Mestrado.

A UNICENTRO, TECNORG, CAPES e UTFPR por me proporcionar a estrutura, reagentes e auxílio financeiro necessários para realização deste projeto.

Essa conquista não é somente minha, também é de todos que me apoiaram e ainda me apoiam!

RESUMO

No decorrer da história várias ervas aromáticas foram utilizadas na preparação de cervejas, com a principal intenção de conservar o produto. O lúpulo se destacou entre elas, pois apresenta propriedades conservantes e sensoriais singulares. Cervejarias estão apostando na produção de cervejas com adição de ingredientes especiais, além do lúpulo. Portanto, a busca por um produto diferenciado capaz de satisfazer o paladar do mais exigente dos consumidores se torna fundamental. Este trabalho teve como principal meta o uso de diferentes plantas amargas na produção de cervejas, do tipo *Pilsen*, com o propósito de aprimorar as características sensoriais criando novos estilos de cerveja, diminuindo os custos relacionados às matérias-primas. As matérias-primas introduzidas no processo cervejeiro foram o boldo-do-chile (*Peumus boldus*), o café verde (*Coffea arabica*), a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e a losna (*Artemisia absinthium*), todas facilmente encontradas no sul do Brasil. Estas plantas além contribuir para o amargor da bebida, possuem também elevada atividade antioxidante e conteúdo de fenólicos que, quando ingeridas, apresentam inúmeros benefícios ao organismo. A dosagem de cada erva na fabricação das bebidas foi estabelecida por meio da realização de planejamentos experimentais de misturas simplex centroide. Baseado nos planejamentos, foram produzidas quatro diferentes cervejas. As bebidas elaboradas foram submetidas a análise sensorial de escala hedônica. Constatou-se que a cerveja produzida a partir de uma mistura de lúpulo, losna e café verde obteve os maiores índices de intenção de compra, aceitação e preferência. Em adição, foram avaliados os parâmetros físico-químicos das cervejas, tais com pH e índice de amargor. Os parâmetros físico-químicos e a análise sensorial indicaram a possibilidade de produção de cervejas com adição de algumas ervas. A redução da concentração de lúpulo devido a utilização de ervas amargas regionais tornou o processo menos dispendioso, mantendo a qualidade do produto final.

ABSTRACT

Throughout history various herbs were used in the preparation of beer, with the main intention to preserve the product. Hops stood out among them, because it has natural preservatives and sensory properties. Breweries are betting on the production of beer with the addition of special ingredients, in addition to hops. So the search for a differentiated product able to satisfy the palate of the most discerning of consumers becomes critical. This work had as main goal the use of different bitter plants in the production of beer *Pilsen*, in order to improve sensory characteristics by creating new beer styles, decreasing the costs related to raw materials. The raw materials introduced into the brewing process were boldo-of-chile (*Peumus boldus*), green coffee (*Coffea arabica*), yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and wormwood (*Artemisia absinthium*), all easily found in southern Brazil. These plants in addition contribute to the bitterness of the drink, also have high antioxidant activity and phenolic content that, when ingested, have numerous benefits to the body. The dosage of each herb in the manufacture of beverages was established by performing experimental designs of type of simplex centroid mixtures. Based on these designs, four different beers were produced. The elaborated drinks were subjected to sensory analysis of hedonic scale. It was found that the beer produced from a mixture of hops, wormwood and green coffee obtained the highest rates of purchase intent, acceptance and preference. In addition, were evaluated the physicochemical parameters of beers such pH and bitterness index. The physico-chemical parameters and sensory analysis indicated the possibility of production of beers with addition of some herbs. Reducing the concentration of hops due to the use of regional bitter herbs made the process less expensive while maintaining the quality of the final product.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
SUMÁRIO	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Histórico.....	2
2.2 Mercado internacional/nacional.....	3
2.3 Benefícios do consumo moderado de cerveja.....	4
2.4 Matérias-primas.....	6
2.4.1 Água.....	6
2.4.2 Malte.....	6
2.4.3 Levedura.....	8
2.4.4 Lúpulo.....	9
2.5 Processo de produção de cerveja.....	13
2.5.1 Moagem.....	13
2.5.2 Mosturação.....	14
2.5.3 Filtração.....	16
2.5.4 Fervura.....	16
2.5.5 Tratamento do mosto.....	17
2.5.6 Fermentação.....	17
2.5.7 Maturação.....	18
2.5.8 Clarificação.....	19
2.5.9 Carbonatação.....	20
2.6 Definição Legal.....	20
2.6.1 Extrato primitivo.....	21
2.6.2 Cor.....	21

2.6.3 Teor alcoólico.....	21
Proporção de malte.....	21
2.6.5 Tipo de fermentação.....	22
2.7 Análise sensorial.....	22
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 Geral.....	25
3.2. Específicos.....	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
4.1 Matérias-primas.....	26
4.2 Extração em meio aquoso das ervas estudadas.....	28
4.3 Parâmetros físico-químicos.....	29
4.3.1 Valor de pH.....	29
4.3.2 Acidez total.....	29
4.3.3 Acidez titulável em ácido orgânico.....	29
4.3.4 Atividade antioxidante.....	30
4.3.5 Perfil cromatográfico.....	30
4.4 Determinação da dosagem ótima das ervas no processo de fabricação de cervejas utilizando planejamento experimental de misturas do tipo Simplex Centroide.....	31
4.5 Fabricação de cerveja do tipo <i>Pilsen</i> com adição de ervas.....	33
4.5.1 Matérias-primas.....	33
4.5.1.1 Água	33
4.5.1.2 Malte.....	33
4.5.1.3 Lúpulo.....	33
4.5.1.4 Levedura.....	34
4.5.2 Processo de produção de cerveja.....	34
4.5.2.1 Moagem do malte.....	34
4.5.2.2 Mosturação.....	34
4.5.2.3 Filtração.....	35
4.5.2.4 Fervura.....	35
4.5.2.5 Tratamento do mosto.....	35
4.5.2.6 Fermentação.....	36
4.5.2.7 Maturação.....	37

4.5.2.8 Carbonatação.....	37
4.6 Avaliação dos parâmetros físico-químicos das cervejas produzidas.....	38
4.6.1 Determinação de unidades de amargor.....	38
4.7 Análise sensorial.....	38
4.7.1 Testes sensoriais.....	39
4.7.2 Análise estatística.....	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1 Parâmetros físico-químicos dos extratos aquosos elaborados.....	41
5.1.1 Análise cromatográfica dos extratos	45
5.1.1.1 Boldo.....	47
5.1.2 Atividade antioxidante.....	49
5.2 Planejamento de misturas simplex centroide.....	51
5.2.1 Planejamento de misturas simplex centroide aplicado na otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, losna e café verde).....	53
5.2.2 Planejamento de misturas simplex centroide aplicado na otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, boldo e erva-mate).....	58
5.3 Análise sensorial.....	63
5.3.1 Caracterização dos provadores.....	63
5.3.2 Aceitação global.....	64
5.3.3 Perfil de atributo.....	66
5.3.4 Perfil de atitude.....	68
5.3.5 Perfil de preferência.....	70
5.4 Parâmetros físico-químicos das cervejas elaboradas.....	75
7. CONCLUSÕES.....	77
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do grão de cevada.

Tabela 2 - Composição química do lúpulo em flor.

Tabela 3 - Temperatura e pH de atuação das enzimas.

Tabela 4 - Relação entre os ingredientes adicionados em cada cerveja/amostra.

Tabela 5 - Parâmetros físico-químicos avaliados nos extratos aquosos e suas respectivas matérias-primas.

Tabela 6 - Resultados obtidos de inibição percentual dos extratos avaliados.

Tabela 7 - Matriz do planejamento de misturas simplex centroide aplicado na otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, losna e café verde) para aplicação na formulação de cerveja *Pilsen*.

Tabela 8 - Análise de variância dos modelos obtidos para a otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, losna e café verde).

Tabela 9 - Proporção proveniente do planejamento de misturas suas respectivas nomeações

Tabela 10 - Matriz do planejamento de misturas simplex centroide aplicado na otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, boldo e erva-mate) para aplicação na formulação de cerveja tipo *Pilsen*.

Tabela 11 - Análise de variância dos modelos obtidos para a otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, boldo e erva-mate).

Tabela 12 – Proporções provenientes do planejamento de misturas e suas respectivas nomeações.

Tabela 13 - Proporções provenientes da bebida sem lúpulo.

Tabela 14 - Resultados da aceitação global das bebidas elaboradas.

Tabela 15 - Resultados do teste de Perfil de preferência das bebidas elaboradas.

Tabela 16 - Intenção de compra proveniente do perfil de atitude

Tabela 17 - Comentários positivos e negativos referentes a Amostra 1

Tabela 18 - Comentários positivos e negativos referentes as Amostras 2 e 4

Tabela 19 - Comentários positivos e negativos referentes a Amostra 3.

Tabela 20 - Parâmetros físico-químicos avaliados nas cervejas elaboradas.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Dados financeiros e logísticos referentes ao setor financeiro em 2014.
- Figura 2** – Círculo virtuoso do setor cervejeiro.
- Figura 3** – Relação entre o consumo de álcool por grama por dia e o risco de moralidade relativa.
- Figura 4** – Vias de metabolização apresentadas por *S. cerevisiae*.
- Figura 5** – Lupulina presente nas flores de lúpulo.
- Figura 6.** Estrutura dos ácidos orgânicos presentes no lúpulo.
- Figura 7** – Moedor convencional de malte.
- Figura 8** - Variação da temperatura em função do tempo durante o processo de mosturação.
- Figura 9** - Fermentador aço inoxidável utilizado em escala industrial.
- Figura 10** – Fórmulas estruturais do (A) diacetil e (B) 2,3 pentanodiona.
- Figura 11** – Matérias-primas utilizadas no presente trabalho. (A) Boldo-do-chile - *Peumus boldus*, (B) Losna - *Artemisia absinthium*, (C) Erva-mate - *Ilex paraguariensis* e (D) Café verde - *Coffea arábica*.
- Figura 12** - Lúpulo em pellets.
- Figura 13** - Procedimento experimental de preparação dos extratos aquosos.
- Figura 14** - Cromatógrafo gasoso equipado com detector de ionização de chama.
- Figura 15** - Planejamentos de misturas de três componentes do tipo simplex centroide para otimização da dosagem de ervas amargas para substituição parcial ou total do lúpulo na fabricação de cervejas.
- Figura 16** - Moinho de cereais manual.
- Figura 17** - Controle da temperatura durante fermentação.
- Figura 18** - Sistema utilizado para fermentação.
- Figura 19.** Reação de isomerização térmica dos α ácidos durante o cozimento do mosto.
- Figura 20.** Cromatogramas obtidos por CG-FID para os extratos orgânicos de (A) losna, (B) café verde e (C) erva-mate.
- Figura 21.** Cromatogramas obtidos por CG-FID para os extratos orgânicos de boldo referentes as amostras (A) tempo de extração igual a 30 minutos, (B) tempo de extração igual a 60 minutos e (C) tempo de extração igual a 120 minutos.
- Figura 22** - Cromatogramas ampliados obtidos por CG-FID para os extratos orgânicos de boldo referentes as amostras (A) tempo de extração igual a 30 minutos, (B) tempo de extração igual a 60 minutos e (C) tempo de extração igual a 120 minutos.

Figura 23 – Ensaio antioxidante referentes aos extratos aquosos de lúpulo, boldo, café verde, erva-mate e losna.

Figura 24 - Gráficos de contorno para o planejamento de misturas de extratos de lúpulo, losna e café verde considerando as respostas de (A) pH, acidez, concentração de fenólicos (mg/L) e percentagem de inibição (%).

Figura 25 - Gráficos de contorno para o planejamento de misturas de extratos de lúpulo, boldo e erva-mate considerando as respostas de pH, acidez, concentração de fenólicos (mg/L) e percentagem de inibição (%).

Figura 26 - Distribuição dos provadores por faixa etária e sexo

Figura 27 - Histogramas das médias da análise sensorial de preferência das cervejas.

Figura 28 - Histograma de frequência da possível aquisição das cervejas preparadas (n=61).

Figura 29 - Histograma da relação entre a frequência das respostas e a amostra.

Figura 30 - Histograma do perfil de preferência das cervejas por sexo.

Figura 31 - Cervejas elaboradas a partir de ervas amargas (1) lúpulo/losna/café verde, (2) lúpulo/boldo/erva-mate, (3) lúpulo/losna e (4) boldo/café verde/losna/erva-mate.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

PIB	Produto Interno Bruto
OMS	Organização Mundial da Saúde
ppm	Partes por milhão
ppb	Partes por bilhão
EMP	Embrapa Meyerhof Parnas
DMS	Sulfeto de Metila
CO ₂	Dióxido de Carbono
EBC	European Brewery Convention
UNICENTRO	Universidade Estadual do Centro-Oeste
UTFPR	Universidade Federal Tecnológica do Paraná
MFAA	Métodos Físico-Químicos de Análise de Alimentos
ABTS	2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácidosulfônico)
ABTS [•]	Radical 2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina- 6-ácido sulfônico)
UB	Unidades de amargor
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
ANOVA	Análise de Variância
BHT	Hidroxitolueno butilado
BHA	3-terc-butil-4—hidroxianisol
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil

1. INTRODUÇÃO

A cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais apreciadas e consumidas no Mundo. A sua origem é incerta, porém existem relatos que indicam a região da Babilônia como o berço de sua produção (DRAGONE e SILVA, 2010). Já no Brasil essa bebida tornou-se popular somente no início do século XIX, com a chegada de D. João VI (MEGA, NEVES e ANDRADE, 2011). Segundo a legislação brasileira a cerveja é definida como “Uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo” (ANVISA, 1978). Ao decorrer da história, inúmeras ervas aromáticas foram utilizadas na preparação de cervejas com a principal intenção de conservar o produto. O lúpulo se destacou entre elas, pois apresenta propriedades conservantes e sensoriais singulares. A região de Hallertau no sul da Alemanha é uma das maiores produtoras de lúpulo de alta qualidade, chegando a quase 30% da produção Mundial (VANDERHAEGEN *et al.*, 2006).

O consumo e produção de cerveja no Brasil estão em franco crescimento. A busca por um produto diferenciado capaz de satisfazer o paladar do mais exigente dos consumidores propiciou a produção de cervejas artesanais e especiais. Atualmente existem diversos estabelecimentos para atender esta demanda.

A literatura indica que já foram realizados inúmeros estudos para definir a composição química do óleo essencial do lúpulo. Analisando sua composição é possível estudar novas matérias-primas visando à substituição parcial do lúpulo e o melhoramento das características sensoriais da cerveja. Examinando o perfil químico de diversas ervas provenientes da região Sul do Brasil, foram observadas similaridades entre a composição química do óleo do lúpulo e destas novas matérias-primas, existindo então, a possibilidade da substituição parcial do lúpulo.

Nesse sentido, este trabalho apresenta o estudo da inserção de diferentes matérias-primas amargas no processo de produção de cerveja, criando novos estilos e substituindo parcialmente o lúpulo. As matérias-primas estudadas foram o boldo-do-chile (*Peumus boldus*), café verde (*Coffea arabica*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e losna (*Artemisia absinthium*).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico

A origem das bebidas alcoólicas é incerta, mas há relatos que tenham sido produzidas desde que o homem conheceu o processo de fermentação, cerca de 10.000 anos atrás. Esse tipo de processo também auxiliou a obtenção de alimentos, tais como queijo e outros derivados do leite (DRAGONE e SILVA, 2010).

Existem evidências concretas que o surgimento deste tipo de bebida aconteceu na Mesopotâmia. Nesta região foram encontradas provas arqueológicas da produção e do consumo de uma bebida similar a cerveja, obtida a partir de um cereal. O processo de preparação da cerveja era inicialmente realizado por padeiros, já que seus principais ingredientes eram as leveduras e os cereais. Dentre os cereais, a cevada se destacou por gerar um produto de melhor sabor (DRAGONE e SILVA, 2010).

A produção de cerveja aumentou significativamente durante a Idade Média devido à influência dos mosteiros. Os monges procuravam produzir um produto mais palatável e mais nutritivo, auxiliando-os durante os dias de jejum. A sua principal contribuição foi o emprego de ervas aromáticas a fim de conservar a bebida produzida, alterando o sabor e o aroma. Durante a Idade Média eram utilizados vários aromatizantes distintos como, por exemplo, o mirto e o gruyt (mistura de ervas aromáticas). O lúpulo (*Humulus lupulus*) que fazia parte do Gruyt, posteriormente se destacou como aromatizante de qualidade superior tanto pelas características antissépticas quanto pelas organolépticas. Em 1516 o Duque Guilherme VI da Bavária promulgou a Reinheitsgebot (lei de pureza alemã) que tornou ilegal a produção de cerveja com ingredientes que não fossem água, cevada e lúpulo (ressalta-se que nesta época o processo de fermentação não era amplamente compreendido) (VANDERHAEGEN *et al.*, 2006).

Inicialmente a cerveja foi impedida de ser trazida para o Brasil, já que os portugueses temiam perder o mercado de seus vinhos. Esta bebida foi introduzida somente no início do século XIX com a chegada da Família Real portuguesa. Durante esse período, a cerveja consumida em território brasileiro era importada dos países europeus (MEGA, NEVES e ANDRADE, 2011). Em 1836 com o aumento do consumo surgiu a primeira cerveja artesanal fabricada no Brasil. Mais tarde, em 1888 foi fundada uma das primeiras fábricas relatadas na literatura, a “Manufatura de Cerveja Brahma Villigier e Cia” no Rio de Janeiro. Desde então a produção e o consumo de cerveja cresceram significativamente (DRAGONE e SILVA, 2010).

2.2 Mercado internacional/nacional

O setor cervejeiro no Brasil apresenta ampla capilaridade, já que está presente em todas as cidades do país numa cadeia que vai do agronegócio ao pequeno varejo. Com mais de 2,2 milhões de pessoas empregadas ao longo da cadeia, este setor gerou mais de R\$ 21 bilhões em impostos, em 2014. Possuindo um importante efeito multiplicador na economia, sua atuação movimenta uma cadeia produtiva que é responsável por 1,6% do produto interno bruto (PIB). Segundo o IBOPE, a bebida eleita como a “A Cara do Brasileiro” é a cerveja, com mais de 59% de preferência dos entrevistados (SALLES, 2015).

Em 2014, o Brasil produziu 14 bilhões de litros de cerveja, mantendo o terceiro lugar no ranking mundial de produção. O maior produtor mundial da bebida é a China seguida dos Estados Unidos. A Figura 1 apresenta os resultados avaliados do setor cervejeiro (SALLES, 2015).



Figura 1. Dados financeiros e logísticos referentes ao setor financeiro em 2014.

Fonte: Salles (2015).

O faturamento anual do setor cervejeiro foi de aproximadamente R\$ 70 bilhões em 2014. Isso se deve ao aumento de investimentos e ao aprimoramento dos parques produtivos e a

inovação do processo. Analisando a Figura 2, o círculo virtuoso ilustra a relação entre o investimento, o aumento da produção, aumento de empregos finalizando no aumento da renda (SALLES, 2015).



Figura 2. Círculo virtuoso do setor cervejeiro.

Fonte: Salles (2015).

Segundo a Cervbrasil (2015), o Brasil está na 27ª posição do ranking mundial, com consumo de 66,9 litros por pessoa, em 2014. A República Tcheca lidera a lista com consumo de 147,1 litros por pessoa.

2.3 Benefícios do consumo moderado de cerveja

Estudos demonstram que a cerveja diminui o risco de doenças cardiovasculares tão bem quanto o vinho. RIMM e pesquisadores (2000) indicaram que o principal responsável pela redução do risco de doenças cardiovasculares é o álcool. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera que duas doses (200 mL) são saudáveis e não causam aumento abdominal, interagindo sinergicamente com uma dieta balanceada (SALLES, 2015).

Vários componentes presentes nas matérias-primas da cerveja apresentam efeitos antioxidantes comprovados. Vitamina B12, presente na bebida, produz serotonina e dopamina, neurotransmissores responsáveis pela sensação de bem-estar (SALLES, 2015). A cerveja também é fonte de fibras solúveis, provenientes da casca do malte. Portanto duas doses

recomendadas pela OMS contêm em média 10% das fibras necessárias ao consumo diário (BAMFORTH, 2002).

A Figura 3 ilustra a relação entre o consumo alcoólico e o risco de morte de qualquer causa de homens e mulheres na Europa, Estados Unidos e outros países. Em todos os países, o consumo moderado de álcool reduziu o risco de morte precoce, tanto para homens quanto para mulheres. O estudo evidencia que o consumo de pequenas quantidades de álcool deve ser incentivado. Porém, se consumido em excesso, pode provocar inúmeros problemas de saúde física e psicológica (DI CASTELNUOVO *et al.*, 2006).

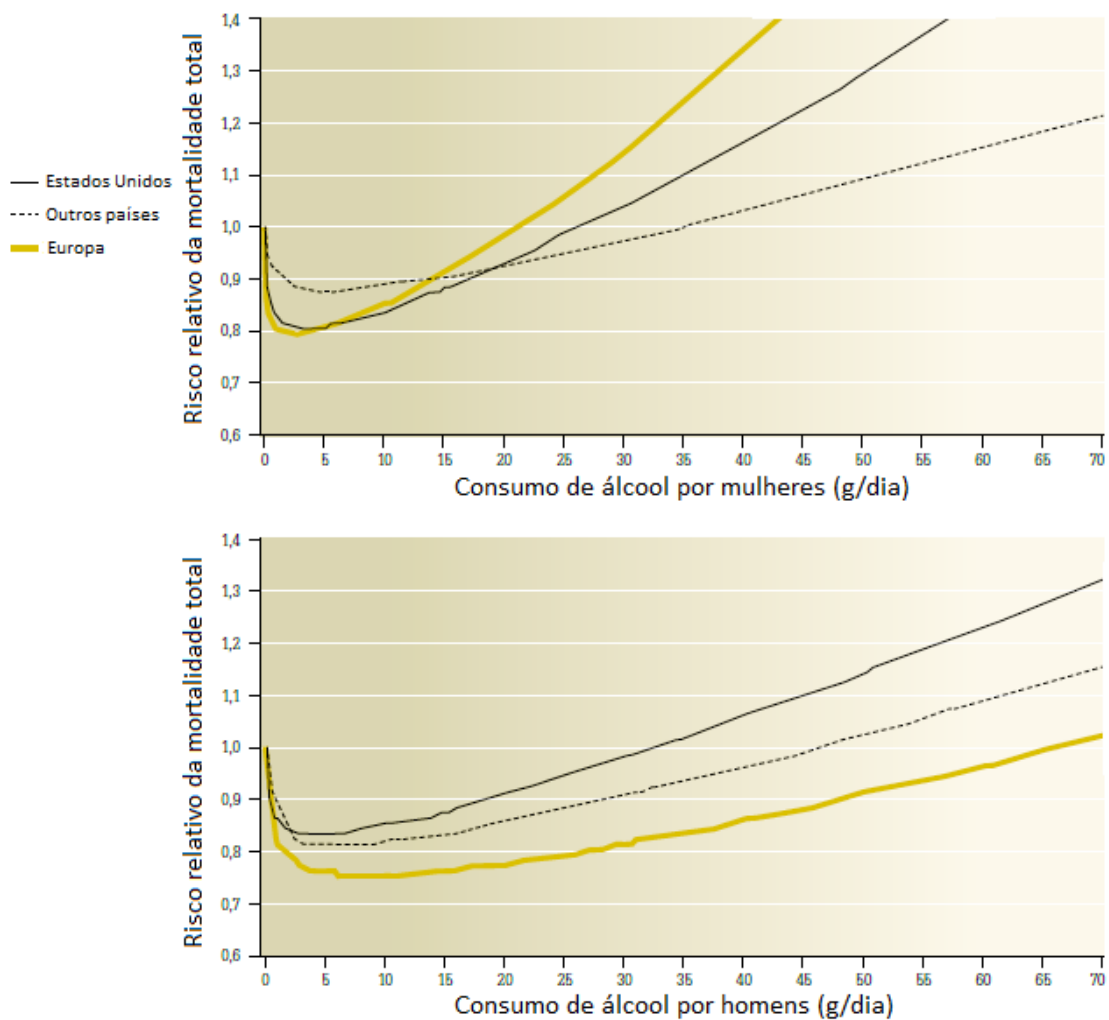


Figura 3. Relação entre o consumo de álcool por grama por dia e o risco de mortalidade relativa. Fonte: Walker (2008)

2.4 Matérias-primas

O perfil químico da cerveja é complexo. É composta basicamente por água, contendo também etanol, CO₂, sais inorgânicos e inúmeros compostos orgânicos que variam de concentrações de ppb até ppm. As matérias primas para a produção de cerveja são o lúpulo, o malte, a levedura e a água, podendo ainda ser utilizado outras fontes de amido e de açúcar (adjuntos do malte) (CARVALHO, BENTO e SILVA, 2007).

2.4.1 Água

Dentre as matérias primas da cerveja, a água é a que está em maior quantidade, cerca de 90% em peso. Por esse motivo durante muito tempo as indústrias cervejeiras estiveram localizadas em regiões onde a composição química da água é adequada para seu processo (DRAGONE e SILVA, 2010). Com o objetivo de eliminar a dependência de poços artesianos, que são fontes de água de elevada qualidade, as grandes cervejarias anexaram em sua estrutura estações de tratamento de água. Por meio dessas estações a cervejaria se torna menos dependente de poços artesianos e padroniza a água utilizada no processo de fabricação da bebida.

Vários parâmetros devem ser analisados para aferir a qualidade da água a ser utilizada no processo. Dentre eles destacam-se o pH que influencia diretamente a atividade enzimática e a presença ou não de determinados íons metálicos. Os íons magnésio, por exemplo, em baixas concentrações, auxiliam a atividade de algumas enzimas, já em altas concentrações conferem um gosto indesejado ao produto final (SIDOOSKI, 2011).

2.4.2 Malte

A Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos define o malte como sendo o produto resultante da germinação e posterior dessecação do grão de cevada (*Hordeum sativum*) ou de outros cereais. Quando a cevada é submetida a esse processo o produto deve ser chamado apenas de “malte”. Quando qualquer outro grão for submetido ao mesmo processo o produto deve ser chamado de “malte” seguido do nome do cereal de origem (BRASIL, 2009).

Embora qualquer cereal possa ser satisfatoriamente maltado, nem todos geram cervejas com características organolépticas ideais. A cevada se destaca entre os demais por vários

motivos. Um deles é que este grão apresenta as menores dificuldades técnicas no processo de maltagem. Por exemplo, o trigo durante a maltagem sofre ataque de micro-organismos presentes na superfície do grão. Este cereal maltado também apresenta alto poder diastásico, que afere a capacidade do grão em hidrolisar o amido presente em seu interior, alto teor de amido e custo relativamente baixo (DRAGONE e SILVA, 2010; SIDOOSKI, 2011).

Após a colheita da safra, os grãos são armazenados em silos com temperatura e umidade controladas, aguardando o envio para a indústria que produz malte (maltaria). O processo de maltagem consiste em induzir o grão a germinar sob condições favoráveis e interromper a germinação assim que o grão tenha iniciado a criação de uma nova planta. Durante todo processo de maltagem devem ser controlados os níveis de umidade, a temperatura e a aeração (CARVALHO, BENTO e SILVA, 2006).

Tabela 1. Composição do grão de cevada.

Características	Cevada	Malte
Massa do grão (mg)	32-36	29-33
Umidade (%)	10-14	4-6
Amido (%)	55-60	50-55
Açúcares (%)	0,5-1,0	8-10
Poder diastásico, °Lintner	50-60	100-250
α amilase, UD	traços	30-60
Atividade proteolítica	traços	15-30

Fonte: Cereda (1985)

Analisando a Tabela 1 é possível verificar que o processo de maltagem modifica a composição do grão. O amido presente no grão maltado apresenta-se em cadeias menores do que na cevada, tornando-o menos duro e mais solúvel. Durante o procedimento são produzidas enzimas essenciais para o processo cervejeiro, como por exemplo, a α -amilase responsável em fragmentar o amido. Outro item que está relacionado com a atuação enzimática é a atividade proteolítica. Tanto a atividade proteolítica quanto o poder diastásico aumentam ao decorrer do processo de maltagem (DRAGONE e SILVA, 2010).

Apesar dos altos riscos naturais do processo, esta indústria fomenta a economia da região e do Brasil. Atualmente a Agrária Malte, localizada no município de Guarapuava no estado do Paraná, é a maior fábrica de malte do país, com capacidade de 220.000 t/ano. O malte

produzido nesta região é utilizado por mais de 100 cervejarias, de caráter artesanal ou industrial (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

2.4.3 Levedura

A levedura é outro elemento essencial para o processo cervejeiro. Esta contribui significativamente para o sabor e aroma da bebida. Na natureza existem vários tipos de fungos, porém, normalmente apenas um gênero é utilizado na preparação da cerveja, o *Saccharomyces*. Dentro desse gênero várias cepas são capazes de produzir os dois metabólitos primários importantes para a bebida, o etanol e o dióxido de carbono. As cervejas são classificadas em dois tipos, ale e lager. A primeira utiliza a cepa *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação e a segunda a *Saccharomyces uvarum* (DRAGONE e SILVA, 2010).

Existem algumas diferenças bioquímicas entre os dois tipos de leveduras citadas acima. A cepa *S. uvarum* possui genes MEL que induzem a produção da enzima melibiase, permitindo a utilização do dissacarídeo melibiose (glicose-galactose). Porém, a cepa *S. cerevisiae* não possui tais genes e, portanto, não utiliza este dissacarídeo. Devido a essa e outras disparidades, a cepa *S. cerevisiae* fermenta mais rapidamente, em torno de 3 a 5 dias, já a *S. uvarum*, em torno de 7 a 10 dias (DRAGONE e SILVA, 2010).

Apesar do amplo uso dessas cepas descritas acima, não são só elas que estão presentes na cerveja. Mais de 120 leveduras já foram isoladas nesta bebida, dentre elas se destacam os gêneros *Brettanomyces*, *Debaromyces* e *Kloeckera*. A essas leveduras indesejadas dá-se o nome de leveduras selvagens, e são consideradas contaminantes. Este contaminante influencia diretamente a velocidade de fermentação, floculação e o paladar final (SANTOS, 2011).

As condições de fermentação alteram o metabolismo da levedura. Na ausência de oxigênio ela tende a metabolizar a glicose pela via Embden Meyerhof Parnas (EMP), utilizando o piruvato proveniente da glicose para produzir etanol e dióxido de carbono. Já na presença de oxigênio a levedura pode metabolizar glicose por duas vias, a do ciclo de Krebs e a EMP. O ciclo de Krebs ou ciclo do ácido cítrico utiliza o piruvato para produzir água, dióxido de carbono e outros subprodutos. Vale ressaltar que este ciclo não gera etanol. A Figura 4 ilustra as vias anaeróbicas da metabolização da glicose (SANTOS, 2011).

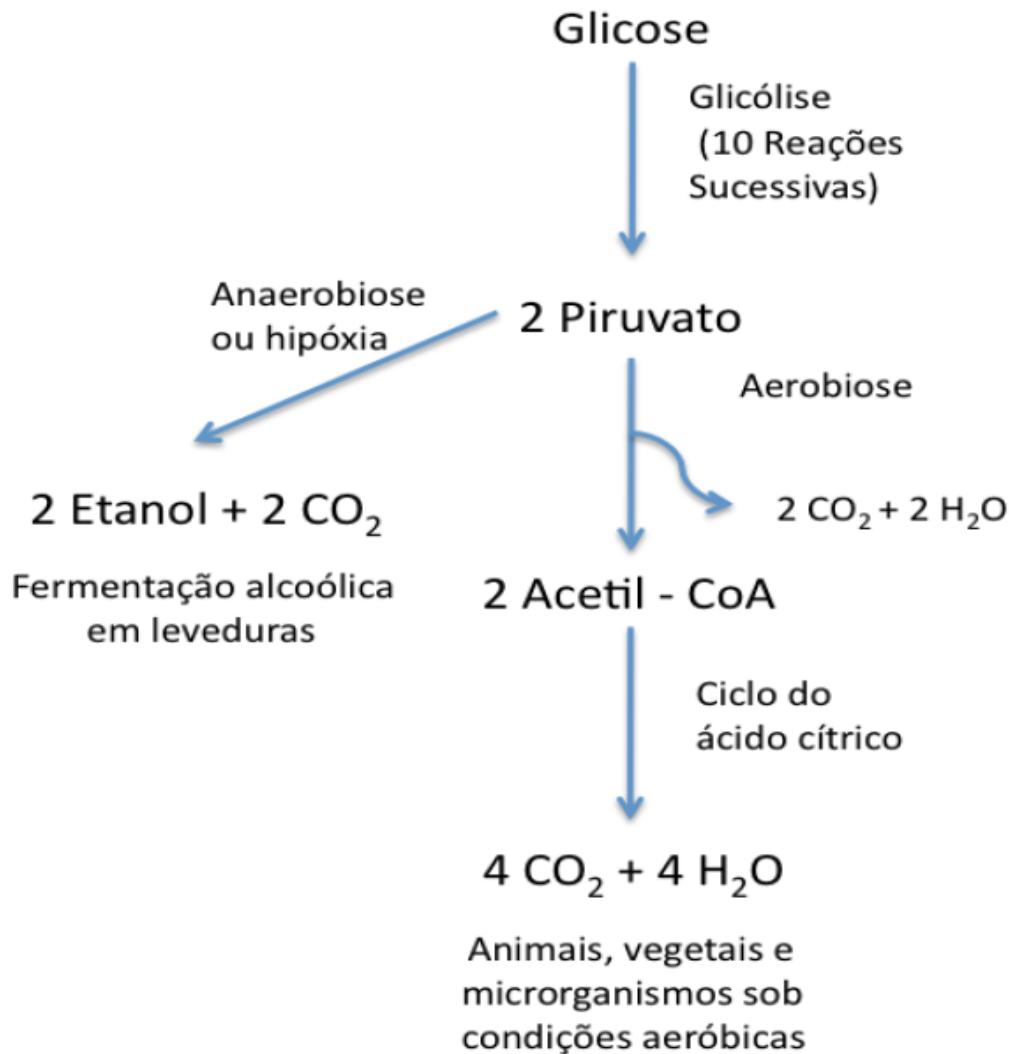


Figura 4. Vias de metabolização apresentadas por *S. cerevisiae*

Fonte: Adaptado de Nelson; Cox (2004).

2.4.4 Lúpulo

O lúpulo é uma trepadeira europeia da espécie *Humulus lupulus*, pertencente à família *Cannabaceae*. Apesar do grau de parentesco com a *Cannabis sativa* (mesma família), o lúpulo não contém propriedades alucinógenas (CARVALHO, 2009).

Esta planta é de difícil cultivo devido à grande suscetibilidade ao ataque de parasitas e insetos, já que mais de 80% de sua extensão é composta por água. Atualmente o país que mais planta e cultiva o lúpulo é a Alemanha, mais especificamente a região de Hallertau (localizada na Baviera) (CARVALHO, 2009).

Esta planta pode ser adicionada ao processo cervejeiro em várias formas, a principal delas sendo em formato de pellets. O processo de preparação e produção dos pellets envolve a moagem e a prensagem em formato de pequenos cones. O lúpulo só permanece unido nestes pequenos cones comprimidos devido à resina natural (lupulina) presente na planta. Vários cervejeiros artesanais adicionam o lúpulo na forma natural, isto é, em folha recém colhida. Esta maneira de utilização, apesar de ainda ser utilizada em escala mundial, se torna cada vez mais difícil em relação ao rendimento, volume ocupado e estocagem. O lúpulo também pode ser adicionado ao processo na forma de extratos, que é basicamente preparado a partir da extração da resina amarga presente na planta. Este tipo de adição apresenta algumas vantagens, como a consistência, espaço de estocagem reduzido e deterioração mínima (ALMEIDA, 2011).

O lúpulo é uma espécie dióica, isto é, possui flores masculinas e femininas em plantas diferentes. A indústria cervejeira se interessa somente pelas flores femininas, mais precisamente as não fecundadas. As flores femininas contêm glândulas recobertas com um pó resinoso amarelo chamado de lupulina. Neste pó existem inúmeros compostos químicos que contribuem para o aroma e amargor do lúpulo e conseqüentemente da cerveja. A lupulina é composta basicamente por resinas amargas e óleos essenciais (ALMEIDA, 2011). A Figura 5 ilustra as resinas amargas, chamadas de lupulinas.



Figura 5. Lupulina presente nas flores de lúpulo.

Fonte: Cultura cervejeira – Lúpulo (2015)

Além de proporcionar amargor e aroma à cerveja, o lúpulo também apresenta atividades antissépticas, conservando por mais tempo o produto final. A Tabela 2 apresenta a composição química do lúpulo (CARVALHO, 2009).

Tabela 2. Composição química do lúpulo em flor.

Características	Porcentagem (%)
Resinas amargas totais	12-22
Proteínas	13-18
Celulose	10-17
Polifenóis	4-14
Umidade	10-12
Sais minerais	7-10
Açúcares	2-4
Lipídeos	2,5-3,0
Óleos essenciais	0,5-2,0
Aminoácidos	0,1-0,2

Fonte: Tschope (2001)

As resinas amargas são compostas principalmente por α e β ácidos, também denominados de humulonas e lupulonas, respectivamente. Durante a etapa de fervura os α -ácidos, pouco solúveis no mosto, são isomerizados para iso- α -ácidos, que são espécies mais hidrofílicas. Além da diferença na solubilidade, os iso- α -ácidos são muito mais amargos que seus precursores, aperfeiçoando não somente o sabor, mas também a qualidade da espuma da cerveja (ALMEIDA, 2011). A Figura 6 ilustra as estruturas dos α e β ácidos.

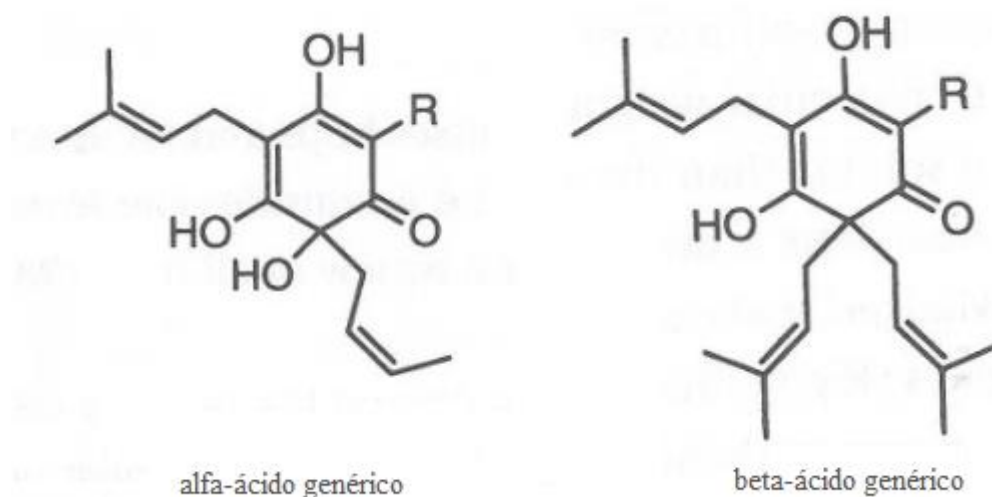


Figura 6. Estrutura dos ácidos orgânicos presentes no lúpulo.

Fonte: Fix (2012)

Os óleos essenciais concedem ao mosto e a cerveja o aroma típico de lúpulo. Embora grande parte destes óleos sejam arrastados com o vapor d'água durante a etapa de fervura, a pequena fração restante dará ao produto final o caráter aromático (CARVALHO, 2009).

Vários estudos foram realizados para definir a composição química do óleo essencial do lúpulo. Analisando sua composição é possível estudar novas matérias-primas visando à substituição parcial do lúpulo e o melhoramento das características organolépticas da cerveja. Examinando o perfil químico de diversas ervas provenientes da região Sul do Brasil, foram observadas similaridades entre a composição química do óleo do lúpulo e destas novas matérias-primas, existindo então, a possibilidade da substituição parcial do lúpulo. Dentre estas ervas podemos citar o boldo, a erva-mate, a losna e o café.

2.4.4.1 Boldo

O boldo, originário das Cordilheiras dos Andes, foi utilizado inicialmente por nativos chilenos ao observarem que os animais, quando doentes, se alimentavam de suas folhas. Desde o século XX até na época atual, esta planta, foi amplamente empregada no tratamento de doenças digestivas. Além do tratamento de doenças digestivas, o boldo é também empregado no tratamento de enfermidades tais como hepatite, flatulência, dores de estômago, distúrbios gástricos, tontura e insônia (HEITICH, 2013).

Devido à todas as propriedades benéficas a saúde, a composição química desta planta foi amplamente estudada. MIRALDI *et al.* (1996) identificou os principais componentes do boldo (*Peumus boldus*). As principais classes de compostos identificados pelo referido autor foram monoterpenos (90,6%), sesquiterpenos (0,3%) entre outros. Dentre os sesquiterpenos, destaca-se a presença do humuleno, composto que também está presente na composição do óleo essencial do lúpulo. Já dentre os monoterpenos destacam-se o Guaiazuleno, o *p*-Cinemo e o Ascaridol. O primeiro é classificado como um sesquiterpeno, que consiste em três unidades de isoprenos com fórmula molecular C₁₅H₂₄. O Humuleno, um composto que está presente no óleo essencial do lúpulo, também faz parte do mesmo tipo de terpeno. Já o *p*-Cinemo apresenta uma estrutura muito similar ao *p*-Xileno e ao Benzeno-1-metil-4-isopropil que também estão presentes no óleo do lúpulo (MASEK *et al.*, 2014).

Zielinski *et al.* (2014) realizaram estudo comparativo do conteúdo de fenólicos e da capacidade antioxidantes de diferentes chás amargos brasileiros. Em relação à capacidade antioxidante, as infusões de boldo e erva-mate se destacaram das demais. Além disto, essas matérias-primas obtiveram resultados expressivos referentes ao conteúdo de fenólicos e flavonoides. O estudo do referido autor corrobora para a possibilidade de inserção das ervas no processo de fabricação de cerveja, já que além de contribuir sensorialmente para o produto final as novas matérias primas podem também aprimorar as suas propriedades antissépticas.

O Ascaridol é uma substância determinante no sabor amargo do boldo. Abdel-Aziz *et al.* (2014) estudou a atividade antioxidante e antibacteriana de nanopartículas contendo isômeros do Ascaridol. Estas nanopartículas apresentaram alta capacidade antioxidante e antibacteriana, o que é essencial para uma matéria-prima que visa substituir parcialmente o lúpulo que apresenta atividades antissépticas.

2.4.4.2 Erva-mate

A planta de erva-mate, nome científico *Ilex paraguariensis*, espécie nativa da América do Sul geralmente cultivada em climas subtropicais em uma extensa área que abrange Brasil, Argentina e Paraguai. Este tipo de cultura desempenha um importante papel socioeconômico e ambiental em pequenas e médias propriedades agrícolas (MALAVOLTA, 2001).

A erva-mate, consumida principalmente na forma de chá ou chimarrão, apresenta uma composição química induz inúmeros benefícios à saúde. Segundo Malavolta (2001), infusões

elaboradas com erva-mate comercial se apresentaram como uma importante fonte de vitaminas e minerais essenciais para o bom funcionamento do corpo humano.

MARQUEZ *et al.* (2013) caracterizou os componentes aromáticos de erva-mate proveniente de diversas regiões. Neste estudo foi possível observar que monoterpenos como mirceno, geranial, geraniol, nerol e o acetato de geranil estão presentes tanto na erva-mate quanto no lúpulo. Existem também hidrocarbonetos, norisoprenos, compostos carbonílicos e aldeídos que coexistem nos dois materiais (MÁRQUEZ *et al.* 2013).

PEDROSO *et al.* (2010) avaliaram a quantidade de gordura abdominal, triglicérides e colesterol em ratos Wistar machos tratados com extratos aquosos elaborados por *Ilex paraguasiensis*. Para tal, foram formados dois grupos, um de controle e outro tratado. O grupo de controle recebia, para hidratação, água. Já o grupo tratado recebia extratos aquosos elaborados por meio de infusões 7,0 g de erva-mate por litro de água. Após oito semanas a quantidade de gordura abdominal, assim como os níveis de triglicérides e colesterol, do grupo tratado reduziram significativamente se comparados aos resultados obtidos para o grupo de controle.

2.4.4.3 Losna

A losna, também conhecida como artemísia, é amplamente utilizada na medicina tradicional para o tratamento de distúrbios intestinais ou nervosos. Esta planta é também empregada na indústria de fabricação bebidas alcoólicas, especificamente na elaboração do absinto (bebida preparada por meio da adição de inúmeras ervas e raízes amargas).

Hoang e Rowen (2014) estudaram a artemisinina, uma das principais substâncias presente na composição química da losna (*Artemisia absinthium*). Para tal, os pesquisadores trataram 400 pacientes com artemisinina, juntamente com um programa nutricional abrangente. Os resultados mostraram que 60% dos pacientes tratados com a substância reduziram, à longo prazo, o número de células cancerígenas.

BLAGOJEVIC *et al.* (2006) estudou a composição química do óleo essencial da losna (*Artemisia absinthium*). O óleo é composto basicamente por terpenos, mais especificamente monoterpenos e sesquiterpenos. Dentre os sesquiterpenos destaca-se o α -humuleno, presente na cerveja e um dos principais responsáveis pelo aroma de lúpulo da bebida. O β -cariofileno, (Z,E)- α -farnaseno, β -selineno, são similares ao α -humuleno e também estão presentes no óleo essencial da losna. O E,E farnesal, presente na composição da losna, é classificado como

sesquiterpeno, assim como vários α -ácidos presentes no lúpulo. O α -pineno, também presente na artemísia, é um monoterpeno utilizado na indústria de perfumes, devido às suas características odoríferas e sensoriais agradáveis. Portanto, além de contribuir em relação ao sabor da bebida, a losna pode também contribuir para o odor da cerveja.

2.4.4.4 Café verde

O café é um dos mais valiosos produtos na economia global, e sua bebida é uma das mais consumidas no mundo. O elevado consumo tem estimulado vários estudos relacionados com a composição química do café verde, isto é, sem torrefação, e o efeito biológico causado no organismo, em decorrência ingestão da bebida. Lima, Pereira e Abrahão (2010) avaliaram a atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro* do café verde, dos compostos bioativos presentes nos grãos. Para tal, foram determinados o conteúdo de fenólicos, ácidos clorogênicos e de cafeína de amostras de café verde em grãos. Os resultados indicaram que a amostra verde apresentou maiores índices de cafeína que por sua vez aumentou sua atividade antioxidante se comparada ao café torrado. Farah *et al.* (2005) constataram que os ácidos clorogênicos, presentes na composição química do café verde, apresentam uma série de benefícios à saúde do ser humano. Podem-se citar, a redução do risco de doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e Alzheimer. O café verde também é estudado graças ao seu efeito auxiliatório na redução de peso. Os compostos bioativos presentes em sua composição são responsáveis por induzir a retirada de gordura de células do fígado (ONAKPOYA, TERRY e ERNST, 2011).

Além de apresentar perfis semelhantes ao do lúpulo as novas matérias-primas são menos dispendiosas se comparadas com a planta europeia. O custo envolvido ao cultivo e importação do lúpulo é elevado. Considerando o perfil químico das ervas e o custo relativamente menor surgiu a possibilidade da adição dessas ervas amargas no processo de produção de cervejas. Adicionando novas matérias-primas o processo se torna menos dispendioso e consequentemente novos estilos de cervejas poderão ser produzidos.

2.5 Processo de produção de cerveja

O processo de fabricação de cerveja envolve inúmeras etapas, tais como moagem do malte, mosturação, filtração, fervura, filtração, tratamento do mosto, fermentação, maturação, clarificação e carbonatação. Cada uma das etapas está descrita nos itens abaixo.

Como já mencionado, este tipo de bebida é preparado utilizando basicamente quatro matérias-primas, malte (de cevada), água, levedura e lúpulo. Neste processo ocorrem transformações químicas nos carboidratos presentes no malte, em álcool etílico, pela ação de leveduras específicas (SIDOOSKI, 2011) .

2.5.1 Moagem

Segundo Sidooski (2011) esta etapa tem influência direta sobre a rapidez das transformações físico-químicas, o rendimento, a clarificação e a qualidade do produto final. Com a redução do tamanho e formato do grão de malte obtêm-se:

- Rompimento da casca no sentido longitudinal, expondo o endosperma (porção interna do grão);
- Desintegração total do endosperma, com o objetivo de aprimorar a atuação enzimática;
- Produção mínima de farinha com granulometria muito fina, que podem dificultar etapas posteriores.

A moagem do malte geralmente é procedida em moinho de rolos em duas etapas, sendo regulados a uma distância de 0,6 mm na primeira etapa e 0,1 mm na segunda. A Figura 7 ilustra um moedor convencional utilizado no processo de moagem (CARVALHO, 2009b).

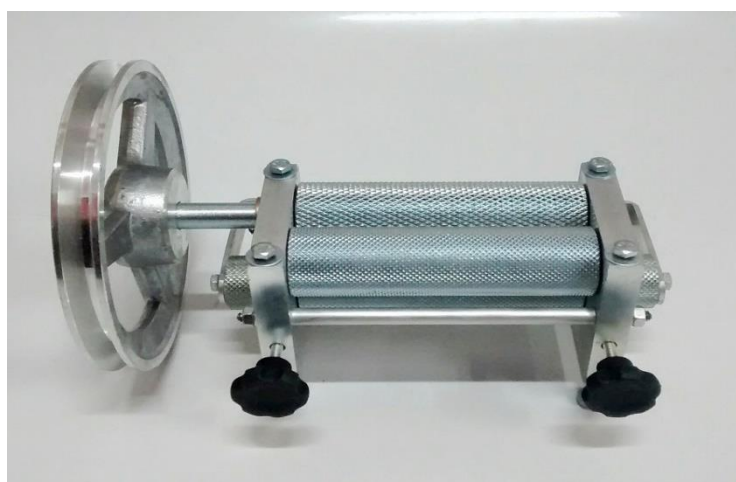


Figura 7. Moedor convencional de malte.

Fonte: Cerveja de casa, equipamentos para cerveja (2015).

2.5.2 Mosturação

A mosturação tem por objetivo solubilizar substâncias naturalmente solúveis em água e, com o auxílio de enzimas, solubilizar substâncias naturalmente insolúveis em água. Esta etapa também tem a finalidade de hidrolisar o amido presente no malte à açúcares fermentáveis (de menor cadeia). Nesse sentido, esta etapa do processo é influenciada pela temperatura da mostura, pelo tempo de atuação de enzimas, concentração de açúcares, qualidade do malte utilizado e pela granulometria da moagem do cereal (SANTOS, 2011).

As enzimas responsáveis pela degradação do amido já estão presentes no malte, porém como já mencionado dependem de vários fatores. Na Tabela 3 estão descritos os valores de temperatura e pH correspondente às atuações enzimáticas e seus respectivos substratos (FILHO, 2010; HOUGH, 1985).

Tabela 3. Temperatura e pH de atuação das enzimas.

Enzimas	Temperatura ótima (°C)	pH ótimo	Substrato
Hemicelulases	40-45	4,5-4,7	Hemicelulose
Exopeptidases	40-50	5,2-8,2	Proteínas
Dextrinase	55-60	5,1	Amido
Beta-amilase	60-65	5,4-5,6	Amido
Alfa-amilases	70-75	5,6-5,8	Amido

Fonte: Tschope (2011) adaptado

A escolha do programa de tempo/temperatura a ser aplicado durante a atuação enzimática dependerá de vários fatores. Nesse contexto o tipo de cerveja produzida, composição do malte, concentração de açúcares, determina os valores de tempo e temperatura que serão utilizados na mostura. Essas condições influenciam a consistência da espuma da cerveja, a porcentagem de açúcares fermentescíveis, quantidade de substâncias proteicas de alto peso molecular (podendo ser desejáveis ou não) e etc. A Figura 8 ilustra a rampa de aquecimento que corresponde a variação da temperatura em função do tempo durante o processo de mosturação (FILHO, 2010).

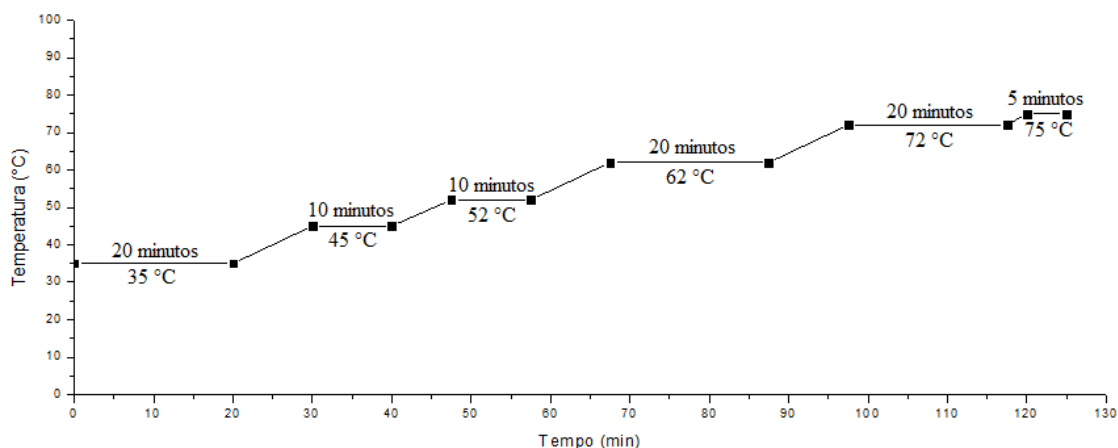


Figura 8. Variação da temperatura em função do tempo durante o processo de mosturação.

Tanto em escala industrial quanto em escala artesanal geralmente ao final da mosturação é realizado teste com solução de iodo. Esse teste tem como objetivo verificar a efetividade na conversão de amido em açúcares fermentescíveis. A inexistência da coloração roxo-azulada na solução indica a ausência de amido e conseqüentemente verifica-se a eficácia da conversão (FILHO, 2010).

2.5.3 Filtração

Esta etapa é procedida em um recipiente chamado tina de filtração. Contêm basicamente agitador, disco filtrante do tipo Pakscreens (fundo com ranhuras), bomba centrífuga e isolamento térmico. O bagaço do malte (casca) é utilizado como camada filtrante. Após a filtração, a camada filtrante é lavada com água visando aumentar a extração de açúcar e conseqüentemente elevar o rendimento do processo (PARK *et al.*, 2007).

2.5.4 Fervura

Em seguida o mosto filtrado é submetido ao processo de fervura. Durante essa etapa é adicionado o lúpulo, principal responsável pelo amargor característico de cerveja. Neste passo ocorrem as seguintes modificações no mosto (SANTOS *et al.*, 2008) (ZANOLI; ZAVATTI, 2008):

- Esterilização: eventuais contaminantes provenientes das matérias-primas são eliminados devido à temperatura de fervura (100 °C).

- Aumento da concentração: devido evaporação da água, a concentração de açúcares aumenta, aumentando também sua densidade.
- Evaporação de voláteis: durante esta etapa vários voláteis indesejados são eliminados da solução. Pode-se citar como exemplo o sulfeto de metila (DMS), responsável pelo aroma de legume cozido na cerveja.
- Isomerização: o lúpulo é utilizado no processo cervejeiro devido a presença em sua composição dos alfa-ácidos. Durante a fervura os alfa-ácidos são isomerizados à iso-alfa-ácidos, responsáveis pelo amargor no produto final. Segundo Zanoli (2008) a graduação máxima de isomerização ocorre entre 60 e 70 minutos de fervura.
- Extração dos produtos desejáveis de aroma, sabor do lúpulo.
- Aumento da cor: devido à caramelização de açúcares presentes no mosto.

No início da fervura o lúpulo é acrescentado, geralmente no formato de pellets, em concentrações que variam dependendo do estilo de cerveja produzida. Durante essa etapa é adicionado adjunto (caso necessário) na forma de açúcar. O tempo de duração da fervura depende do estilo de cerveja e da receita utilizada no processo (FILHO, 2010; ZANOLI e ZAVATTI, 2008).

2.5.5 Tratamento do mosto

Em seguida o mosto é resfriado, com o objetivo de precipitar os complexos proteicos, resinas e taninos denominados de *trub*, os quais sedimentam no recipiente. Em seguida o *trub* decantado é separado do líquido sobrenadante. A temperatura final de resfriamento é determinada pelo tipo de levedura utilizada no processo; leveduras do tipo *lager* são arrefecidas até 7-15 °C. Já as leveduras do tipo *Ale* são arrefecidas até 18-22 °C. Antes da adição das leveduras o mosto deve ser aerado, obtendo concentração de oxigênio dissolvido de 20 ppm (FILHO, 2010).

2.5.6 Fermentação

Esta etapa é de extrema importância ao processo cervejeiro, já que é durante a fermentação que o açúcar presente no mosto é transformado em etanol e gás carbônico. A

responsável por essa transformação é a levedura. O fermento (células de levedura renovadas) deve fornecer ao mosto um número de 10^6 a 10^8 células/mL (CARVALHO, 2007).

A levedura é capaz de metabolizar todos os carboidratos fermentescíveis (maltose, maltotriose, glicose, etc). Além disso, inúmeros subprodutos são produzidos durante a fermentação. Muitos deles permanecem presentes no produto final. Todos os compostos envolvidos na formação de etanol e do gás carbônico influenciam diretamente as propriedades sensoriais finais da cerveja (BORTOLI *et al.*, 2013).

No início da fermentação é de extrema importância a presença de oxigênio. Já que a levedura adicionada ao processo apresenta duas vias de metabolização de açúcares. A primeira, que utiliza oxigênio, é responsável por promover o crescimento celular. Já a segunda, que não utiliza oxigênio, é responsável por transformar açúcar em etanol (CARVALHO, 2007; NEVES, 1993).

A fermentação é conduzida em fermentador provido de controlador e indicador de temperatura, manômetro para indicação da pressão interna, para a monitoração do gás carbônico formado durante o processo. A Figura 9 ilustra um fermentador utilizado em escala industrial.



Figura 9. Fermentador aço inoxidável utilizado em escala industrial.

2.5.7 Maturação

Denominada de fermentação secundária, a maturação é necessária e importante. Porém, não ocorrem mudanças significativas durante este estágio. Entretanto, tanto no processo industrial quanto no processo artesanal, a maturação transcorre por um longo período de tempo. Enquanto a fermentação dura normalmente de 7 a 10 dias, a maturação chega a durar de semanas à meses dependendo do tipo de cerveja produzido (CARVALHO, BENTO e SILVA, 2007).

A maturação é conduzida a baixa temperatura, geralmente 0 °C. Devido ao longo período utilizado na maturação vários pesquisadores visam diminuir o tempo e conseqüentemente o custo de produção. Por exemplo, nos Estados Unidos, existem cervejarias que reduzem para 4 dias a maturação, produzindo cervejas ‘verdes’(CARVALHO, BENTO e SILVA, 2007). Basicamente os principais objetivos da maturação são:

- Iniciar a clarificação da cerveja por meio da sedimentação das leveduras, de material amorfo e de componentes que causam turbidez na bebida.
- Saturar a cerveja com gás carbônico devido a fermentação secundária.
- Aprimorar o sabor da bebida por meio da redução da concentração de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico, bem como o aumento do teor de ésteres.
- Evitar que ocorram possíveis oxidações que comprometam sensorialmente a bebida.

A concentração de vários compostos indesejáveis diminui durante esta etapa. Citam-se o diacetil (2,3 butanidiona), 2,3 pentanodiona etc. A Figura 10 ilustra a estrutura química do diacetil e da pentanodiona. O sabor dessas pentodionas, em baixas concentrações, é agradável. Porém em altas concentrações (acima de 0,2 mg/L de 2,3 pentanodiona e 1 mg/L de diacetil) confere características sensoriais desagradáveis ao produto final.

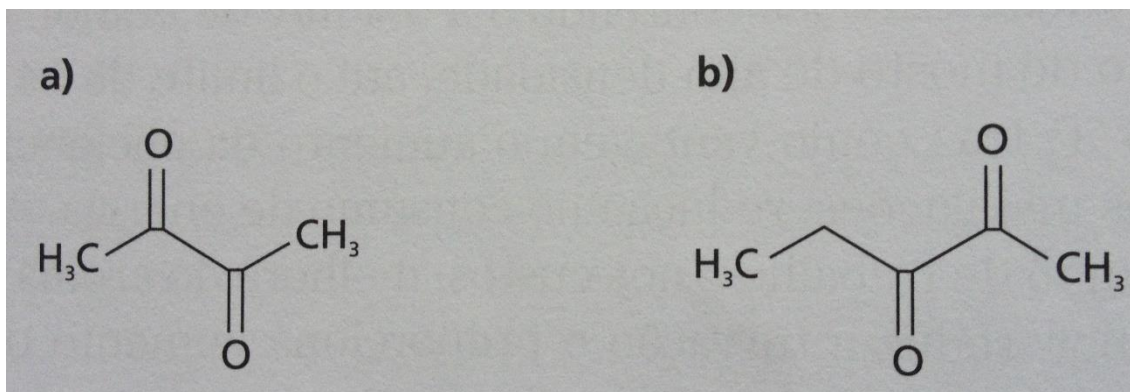


Figura 10. Fórmulas estruturais do a) diacetil e b) 2,3 pentanodiona.

Fonte: Bebidas alcoólicas, 2010

2.5.8 Clarificação

O início da clarificação começou durante a maturação. Porém a cerveja ainda contém leveduras, partículas coloidais e outras substâncias produzidas devido ao baixo valor de pH presente e às baixas temperaturas utilizadas. Portanto, para se obter um produto brilhante e límpido faz-se necessário uma etapa de clarificação. Basicamente existem quatro técnicas que podem ser utilizadas tanto individualmente como em combinação (FILHO, 2010):

- Sedimentação por gravidade;
- Uso de agentes clarificantes bem como betonina ou taninos;
- Centrifugação;
- Filtração empregando filtros de placas.

2.5.9 Carbonatação

O dióxido de carbono (CO₂) é responsável pela efervescência e a sensação de acidez deixada na boca devido às suas propriedades de gás ácido. Devido a essa razão, sua concentração deve ser cuidadosamente controlada de forma a assegurar que os consumidores possam beber um produto de qualidade (FILHO, 2010).

Normalmente nas cervejarias a solubilidade do CO₂ na bebida é medida em volumes, em condições normais de temperatura e pressão. Isso significa que um volume é igual a 0,196% de CO₂ em peso ou 0,4 kg CO₂/hl (FILHO, 2010). O grau de carbonatação depende do estilo de cerveja a ser produzida. Esta etapa pode ser realizada pela injeção de CO₂ pelo método de carbonatação forçada ou por priming. Carbonatação forçada consiste da conexão do barril ao

cilindro de CO₂ equilibrar a pressão em torno de 2,0 kgf/cm². Este método apresenta duração de 3 a 5 dias. Já o método priming, também chamado de refermentação na garrafa, consiste na adição de açúcar fermentável (sacarose, devido à alta taxa fermentativa) e uma reduzida porção de levedura (cerca de 0,06 g/L). Este método apresenta duração de cerca de 21 dias. Comparativamente o priming apresenta menor custo, já que não necessita de equipamentos mais dispendiosos (barril de aço inoxidável e cilindro de CO₂) (FILHO, 2010; VANDERHAEGEN *et al.*, 2006).

2.6 Definição Legal

Decreto 6871, de 04 de junho de 2009, regulamenta a Lei 8.918 que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Este texto legal define a cerveja como “bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo” (ANVISA, 1978).

A Legislação Brasileira classifica as cervejas quanto ao extrato primitivo, à cor, ao teor alcoólico, à proporção de malte e quanto à fermentação.

2.6.1 Extrato primitivo

- Cerveja leve, a que apresenta o teor de extrato primitivo entre 5,0 e 10,5% m/m;
- Cerveja comum, a que apresenta o teor de extrato primitivo entre 10,5 e 12,0% m/m;
- Cerveja extra, a que apresenta o teor de extrato primitivo entre 12,0 e 14,0% m/m;
- Cerveja forte, a que apresenta o teor de extrato primitivo maior que 14,0% m/m.

2.6.2 Cor

- Cerveja clara, a que tiver cor correspondente a menos de vinte unidades European Brewery Convention (EBC);
- Cerveja escura, a que tiver cor correspondente a vinte ou mais unidades EBC.
- Cerveja colorida, a que pela ação de corantes naturais, apresentar coloração diferentes das definidas no padrão EBC.

2.6.3 Teor alcoólico

- Cerveja sem álcool, aquela que apresenta uma proporção de álcool igual ou menor que 0,5% v/v, não sendo obrigatório enunciar no rótulo o conteúdo alcoólico;
- Cerveja com álcool, aquela que apresenta uma proporção de álcool maior que 0,5% v/v, sendo obrigatório enunciar no rótulo o conteúdo alcoólico.

2.6.4 Proporção de malte

- Cerveja puro malte, aquela cuja única fonte de açúcar é o malte de cevada, isto é, apresenta 100% (m/m) de malte, sobre o extrato primitivo;
- Cerveja, aquela que apresenta uma proporção de malte de cevada maior ou igual a 55,0% m/m, sobre o extrato primitivo;
- “Cerveja de ...”, seguida pelo nome do principal vegetal. É definida como a cerveja que possui a proporção de malte entre 20,0 e 55,0% m/m, sobre o extrato primitivo.

2.6.5 Tipo de fermentação

- Alta fermentação, que utiliza a cepa *Saccharomyces cerevisiae*. O processo fermentativo ocorre em temperaturas de cerca de 18 °C, durante 4 ou 5 dias. Este tipo de fermentação gera cervejas do tipo Ale.
- Baixa fermentação, que utiliza a cepa *Saccharomyces uvarum*. O processo fermentativo ocorre em temperaturas de cerca de 10 °C, durante 10 ou 12 dias. Este tipo de fermentação gera cervejas do tipo Lager.

A Legislação Brasileira outorga a utilização de outras fontes de açúcares que não o malte de cevada. E elaboração de cervejas artesanais utilizando adjuntos especiais vem se tornando uma solução para o barateamento do processo cervejeiro. Carvalho (2009) estudou a possibilidade de introdução de banana como adjunto no processo cervejeiro. As fontes secundárias devem ser chamadas de adjuntos do malte. Santos (2011) avaliou o emprego de arroz preto como adjunto na fabricação de cervejas. O emprego desses adjuntos não deve ser superior a quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo (ANVISA, 1978).

O Decreto 6871 também regulamenta sobre a estabilização biológica das bebidas fermentadas. A cerveja não submetida ao processo de pasteurização deve ser denominada de Chope ou Chopp (ANVISA, 1978).

2.7 Análise sensorial

Um dos principais objetivos da análise sensorial é evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos. Bem como, avaliar como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993).

Este tipo de análise é essencial para identificar as expectativas dos consumidores para com a indústria de alimentos. A análise sensorial baseia-se num conjunto de técnicas que tem por objetivo principal mensurar precisamente os atributos sensoriais de produtos a partir de respostas humanas. Tais técnicas utilizam princípios provenientes da ciência dos alimentos, fisiologia, psicologia e estatística. Fornece respostas objetivas para avaliação das propriedades de alimentos, conforme percebida pelos cinco sentidos (PIGGOT, 1984).

Um alimento deve produzir satisfação e ser agradável ao consumidor. Essa satisfação é alcançada por meio da interação de diversos parâmetros de qualidade sensorial. Ao confeccionar um novo produto alimentício, é necessário aprimorar suas características, pois atributos como, forma, cor, aparência, aroma, sabor e amargor influenciarão na qualidade do produto, tendo como objetivo final o equilíbrio entre as propriedades e boa aceitabilidade (BARBOZA, FREITAS e WASZCZYNSKYJ, 2003).

Avaliações sensoriais de produtos podem auxiliar inúmeras companhias/instituições, tais como empresas de suporte técnico para pesquisa, industrialização, marketing e controle de qualidade. Pode apoiar também na área da qualificação de decisões técnicas e administrativas. Já na concepção do consumidor, a avaliação sensorial assegura que os alimentos recém produzidos mantenham suas características desejadas (ROSSINI, ANZANELLO e FOGLIATTO, 2012).

A interpretação das características sensoriais de um alimento se dá por meio de sinais elétricos. Esses impulsos são enviados ao cérebro utilizando uma corrente de neurônios. Inicialmente, verifica-se que o estímulo é registrado pelos receptores (TUAN, 1980). A percepção visual ocorre devido a interação do alimento e a luz e em consequência são produzidas ondas eletromagnéticas que chegam ao olho humano. No olho, órgão fotorreceptor, as ondas eletromagnéticas são transformadas em sinais elétricos perceptíveis na forma se

sensações. A audição e o tato respondem à energia mecânica, isto é, ao choque entre moléculas presentes no ar ou contato físico, respectivamente (PIGGOT, 1984).

Segundo Meilgaard, Civille e Carr (1991), o ser humano aprecia as propriedades de determinado alimento na seguinte ordem: aparência, odor/aroma, consistência, textura e sabor. Muitas vezes, a decisão de aceitação é influenciada basicamente pela aparência. Desta forma, por meio da visão, são registradas as primeiras impressões do produto quanto a sua aparência global. Aparência que envolve características como cor, tamanho, formato, brilho, impurezas, granulometria e outros atributos de textura (FERREIRA *et al.*, 2000).

Já o odor/aroma é percebido pela interação entre compostos voláteis presentes nos alimentos e a cavidade nasal. O sistema envolvido com o processo é o olfativo externo. O odor é a propriedade sensorial perceptível pelo órgão olfativo quando certas substâncias voláteis são aspiradas. Já o aroma é perceptível pelo órgão olfativo via retronasal durante a degustação (ABNT, 1993; MEILGAARD, CIVILLE e CARR, 1991).

O sabor é interpretado pelas relações químicas de um produto na boca. Sabor inclui aroma, gosto e relação química. A sensibilidade não é limitada apenas pela língua. Existem também outras regiões que respondem aos estímulos como palato duro, amídalas, epiglote e ainda em determinadas pessoas a mucosa dos lábios, das bochechas e a superfície inferior da boca (FERREIRA *et al.*, 2000; MEILGAARD, CIVILLE e CARR, 1991).

A alimentação humana não acontece apenas devido a necessidade de suprir o organismo no aspecto nutricional. Existem outras razões envolvidas, sendo a principal o prazer. Nesse contexto, os atributos do alimento devem agradar o consumidor. Logo, a compreensão da relação entre as áreas da fisiologia e psicologia se torna essencial para o desenvolvimento de produtor de alta qualidade (PEDRÃO e CORÓ, 1999).

O presente trabalho foi dividido em três partes. Na primeira, foram analisados os parâmetros físico-químicos de extratos aquosos preparados com a adição das matérias-primas, com a finalidade de estudar a possibilidade de inserção das ervas no processo cervejeiro. Na segunda, foram aplicados planejamentos de misturas do tipo simplex centroide com o objetivo determinar a melhor dosagem das ervas na fabricação das cervejas. Na terceira, foi realizada a análise sensorial visando verificar a aceitação global das bebidas produzidas durante o projeto.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia Orgânica (Tecnorg), Laboratório de Nanotecnologia Farmacêutica pertencentes à Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), e na Central Analítica da UTFPR pertencente à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Ponta Grossa (UTFPR).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Produzir cervejas artesanais, do tipo *Pilsen*, com a adição de ervas visando a substituição parcial do lúpulo.

3.2 Específicos

- Estudar os parâmetros físico-químicos e o perfil cromatográfico de extratos aquosos preparados com a adição de ervas amargas, tais como pH, acidez, atividade antioxidante e conteúdo de fenólicos, visando verificar a possibilidade de inserção das matérias-primas no processo cervejeiro.
- Determinar a dosagem ótima de cada erva no processo de fabricação de cerveja, utilizando planejamento experimental de misturas do tipo simplex centroide.
- Avaliar parâmetros físico-químicos, tais como pH e amargor, nas cervejas elaboradas.
- Avaliar a aceitabilidade, intenção de compra e índice de preferência das cervejas elaboradas, por meio de análise sensorial.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Matérias-primas

As ervas amargas (boldo-do-chile, erva-mate, café verde e losna) utilizadas no presente trabalho foram adquiridas em comércio local. Essas já haviam sido submetidas à processos industriais normais, tais como, secagem à sombra, moagem ou trituração etc. Todas as ervas foram mantidas sob refrigeração a temperaturas entre 3 e 5 °C. A Figura 11 ilustra a forma em que as ervas amargas foram adquiridas.



Figura 11. Matérias-primas utilizadas no presente trabalho. (A) Boldo-do-chile - *Peumus boldus*, (B) Losna - *Artemisia absinthium*, (C) Erva-mate - *Ilex paraguariensis* e (D) Café verde - *Coffea arabica*.

Já o lúpulo, também estudado para efeitos de comparação, foi adquirido em comércio internacional, na forma de pellets. Foi mantido sob refrigeração a temperaturas entre 3 e 5 °C. A Figura 12 exemplifica a matéria-prima.



Figura 12. Lúpulo em pellets

4.2 Extração em meio aquoso das ervas estudadas

Com o objetivo de estudar o perfil cromatográfico e as propriedades físico-químicas das matérias-primas, inicialmente foram preparados extratos aquosos simulando a etapa de fervura do processo cervejeiro. O procedimento realizado é ilustrado pela Figura 13.

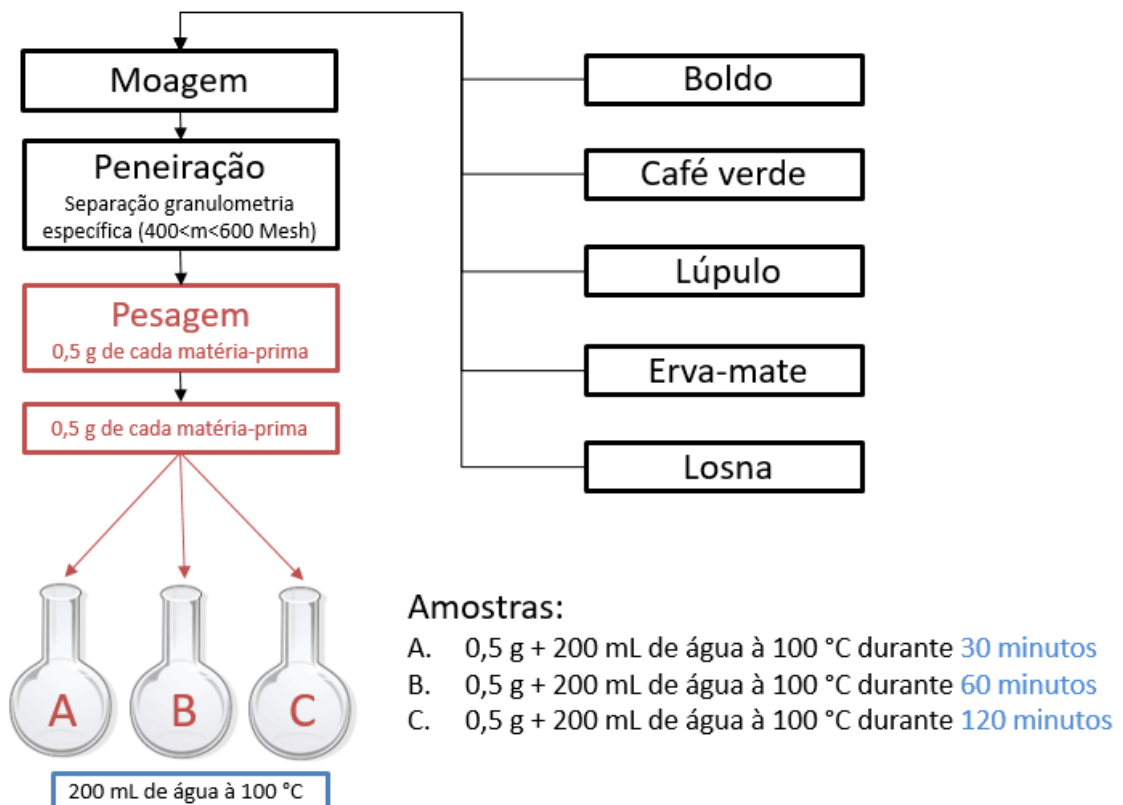


Figura 13. Procedimento experimental de preparação dos extratos aquosos.

Após a etapa de pesagem, 0,5 g da matéria prima foi transferida à um balão volumétrico de fundo redondo abertos contendo 200 mL de água em temperatura de ebulição. A temperatura

de ebulição foi mantida utilizando mantas de aquecimento. O tempo de extração variou de 30 minutos (amostra A) a 120 minutos (amostra C). Em seguida, os extratos aquosos foram filtrados, por meio de papel analítico 80 kg/cm², e o sobrenadante foi acondicionado em refrigerador em temperaturas entre 3 e 5 °C. Dessa forma, cada matéria prima gerou 3 extratos aquosos nomeadas como amostras A, B e C.

De cada extrato, foram avaliados os parâmetros físico-químicos pH, umidade, acidez total, acidez titulável em ácido orgânico e atividade antioxidante. Utilizando técnicas cromatográficas, foram determinados os perfis cromatográficos de cada amostra. Os procedimentos experimentais estão descritos no item 4.4

4.3 Parâmetros físico-químicos

4.3.1 pH

Os valores dos pHs dos extratos foram determinados em aparelho digital da marca comercial Quimis (modelo Q400BD), conforme metodologia descrita pelo método 017/IV baseado em Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (MFAA), disponível em Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.3.2 Acidez total

A acidez titulável indica a qualidade de um alimento ou de uma bebida, tendo em vista que a concentração de íons hidrogênio altera significativamente as características sensoriais da bebida. Este parâmetro foi determinado de acordo com metodologia descrita pelo método 253/IV baseado em MFAA, disponível em Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Esta determinação é expressa em mEq por litro e o cálculo foi realizado conforme Equação 2.

$$A_{Total} = \frac{V \times f \times M \times 100}{V_a} \quad (2)$$

Onde V representa o volume gasto de hidróxido de sódio, f representa o fator de correção do hidróxido de sódio, M representa a molaridade do hidróxido de sódio e V_a representa o volume da amostra em mL.

4.3.3 Acidez titulável em ácido orgânico

A determinação deste tipo de acidez foi realizada de acordo com metodologia descrita pelo método 312/IV baseado em MFAA, disponível em Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Esta determinação foi calculada utilizando a Equação 3. O resultado foi expresso em porcentagem de ácido orgânico presente na amostra.

$$A_{ac} = \frac{V \times F \times M \times PM}{10 \times P \times n} \quad (3)$$

Onde V representa o volume em mL de hidróxido de sódio gasto na titulação, M representa a molaridade da solução de hidróxido de sódio, P representa o volume da amostra em mL, PM representa o peso molecular do ácido acético, n representa o número de hidrogênios ionizáveis e F o fator de correção da solução de hidróxido.

4.3.4 Atividade antioxidante

As atividades antioxidantes dos extratos aquosos foram determinadas pelo sequestro do radical livre ABTS. O radical ABTS• foi formado pela reação do ABTS com persulfato de potássio em uma proporção de 2:1. Depois de formado o radical foi diluído em etanol até a obtenção do valor de absorvância de $0,700 \pm 0,200$. Em ambiente escuro, um volume de 0,020 mL (20 µL) de amostra foi adicionado à 0,180 mL (180 µL) de solução do radical ABTS•. Após sete minutos foram medidas as absorvâncias em espectrofotômetro Unico® (modelo SQ-2800 UV/VIS), no comprimento de onda de 734 nm, utilizando etanol como branco. O resultado foi expresso em percentual de inibição da amostra.

4.3.5 Perfil cromatográfico

Inicialmente os extratos aquosos foram extraídos, utilizando metodologia extração líquido-líquido. O solvente extrator utilizado foi acetato de etila. O procedimento experimental consistiu na extração de 50 mL de extrato aquoso utilizando 50 mL de acetato de etila padrão analítico. Após a divisão entre as fases aquosa e orgânica, utilizando funil de separação do tipo cone, a fase orgânica foi armazenada em refrigerador a temperatura entre 3 e 5 °C. Todos os extratos aquosos foram submetidos ao procedimento de extração com acetato de etila padrão analítico gerando extratos orgânicos.

Os perfis cromatográficos dos extratos orgânicos foram analisados em um cromatógrafo gasoso Allcrom modelo YL-6100GC, como ilustrado na Figura 14, equipado com detector de ionização de chama (FID). A separação dos componentes foi realizada utilizando uma coluna capilar de sílica Agilent 19091S-433 (30 m x 250 µm x 0,25 µm), com temperatura máxima de 325 °C. O programa de temperatura do forno iniciou em 80 °C seguindo à uma taxa de aquecimento de 4 °C/min até 220 °C. O tempo total de análise foi de 38 minutos. A temperatura do injetor e detector foram de 250 °C e 270 °C, respectivamente. Foi adotado o modo *splitless* e o gás de arraste utilizado foi hélio em um fluxo constante de 1 mL/min. O volume de extrato orgânico injetado foi de 1 µL.



Figura 14. Cromatógrafo gasoso equipado com detector de ionização de chama.

4.4 Determinação da dosagem ótima das ervas no processo de fabricação de cervejas utilizando planejamento experimental de misturas do tipo Simplex Centroide.

Para otimizar a composição de extratos de ervas amargas visando a substituição total ou parcial do lúpulo na fabricação de cerveja Pilsen, foram aplicados dois planejamentos de misturas de três componentes do tipo simplex centroide, sem restrição dos componentes como ilustrado na Figura 15. No primeiro planejamento foram estudadas formulações de extratos amargos de lúpulo, losna e café verde e no segundo planejamento formulações de extratos amargos de lúpulo, boldo e erva-mate. Como respostas dos dois planejamentos de misturas foram avaliadas as propriedades físico-químicas de pH, acidez (mEq/L), concentração de fenólicos em mg/L e capacidade antioxidante determinada pela % de inibição dos extratos de ervas amargas analisadas.

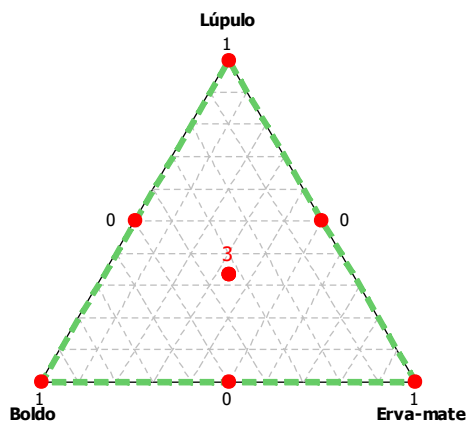
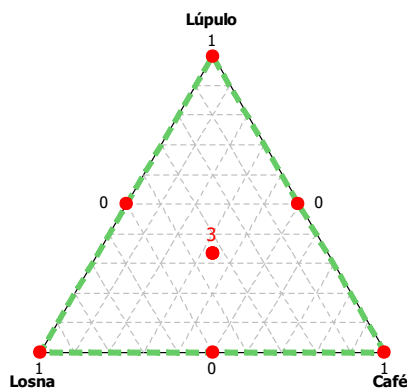


Figura 15. Planejamentos de misturas de três componentes do tipo simplex centroide para otimização da dosagem de ervas amargas para substituição parcial ou total do lúpulo na fabricação de cervejas do tipo *Pilsen*.

A significância dos modelos gerados pelos planejamentos de misturas foi avaliada por uma análise de regressão linear no nível de 95% de confiança e pelo valor do coeficiente de determinação ($R^2 \geq 80\%$). A composição ótima de extratos amargos foi definida pela função de desejabilidade global, que é uma técnica de otimização simultânea de respostas. Toda a análise estatística dos dados foi realizada com o auxílio do software Minitab for Windows versão 16.2.2.

4.5 Fabricação de cerveja do tipo *Pilsen* com adição de ervas

No presente trabalho foram produzidas quatro cervejas distintas, com adição de losna/café verde (nomeada de amostra 1), boldo/erva-mate (amostra 2), losna (amostra 3) e uma bebida sem adição de lúpulo, a qual foi produzida a partir de boldo/erva-mate/losna/café verde (amostra 4). O procedimento experimental adotado para fabricação de todas as bebidas foi o mesmo, diferenciando-se apenas na etapa de fervura.

4.5.1 Matérias-primas

4.5.1.1 Água

A água utilizada nos experimentos de fabricação de cerveja *Pilsen* com adição de ervas amargas foi do tipo mineral. Com índice de magnésio e potássio igual a 11,3 mg/L e 1,79 mg/L, respectivamente, proveniente de poço artesiano localizado em Maringá, Paraná, Brasil.

4.5.1.2 Malte

O malte (de cevada) utilizado foi do tipo *Pilsen*, adquirido junto à Cooperativa Agrária Agroindustrial fornecido em sacos de 50 kg, maltaria localizada no distrito de Entre Rios, Guarapuava, Paraná, Brasil.

4.5.1.3 Lúpulo

No processo de produção de cerveja foi utilizado lúpulo, tipo Hallertau Perle. Lúpulo reconhecido por suas características aromáticas, o qual foi adquirido em comércio internacional. Também foram utilizadas ervas amargas regionais, tais como boldo, erva-mate, losna e café verde, conforme descrito no item 4.2.

4.5.1.4 Levedura

O fermento utilizado foi da marca Lallemand Diamind, do tipo *Lager*, baixa fermentação. A cepa utilizada foi a *Saccharomyces pastorianus*. A levedura foi mantida sob refrigeração a temperaturas entre 3 e 5 °C.

4.5.2 Processo de produção de cerveja

4.5.2.1 Moagem do malte

Para cada cerveja foram moídos 1,2 kg de malte em moinho de cereais manual ilustrado pela Figura 16. Este passo foi dividido em duas etapas. Na primeira, o malte foi moído com um distanciamento entre rolos de cerca de 0,6 mm. Na segunda, o moinho foi regulado para um distanciamento de cerca de 0,1 mm.



Figura 16. Moinho de cereais manual.

Fonte: Loja do mecânico. Disponível em <http://www.lojadomecanico.com.br/produto/79376/49/599/triturador-de-cereais---botini-b03-botini-b03>.

4.5.2.2 Mosturação

Em seguida, o malte moído foi misturado, em um balão de 6,0 L, com 4,0 L de água. A escala de temperatura utilizada na brassagem foi ocultada devido a sua atual utilização no setor industrial. A escala de temperatura foi controlada por meio da utilização de banho termostático com circulação interna de água retornável, marca Novatecnica, modelo NT 271. Ao final desta etapa, com o objetivo de verificar a sacarificação do amido, foi realizado o teste de iodo. Após a confirmação completa da hidrólise, pela ausência da coloração roxo-azulada a solução foi aquecida até 76 °C visando a inativação de enzimas.

4.5.2.3 Filtração

A filtração da mostura para a obtenção do mosto foi dividida em duas etapas. Na primeira, a solução foi filtrada utilizando peneira Mesh 14, marca Bertel. Na segunda, a solução foi novamente filtrada utilizando peneira Mesh 65 da mesma marca. Durante a filtração, a casca do malte foi lavada com 1,5 L de água a 76 °C com o objetivo de aumentar o rendimento do processo.

4.5.2.4 Fervura

A fervura teve duração de duas horas. A Tabela 4 ilustra os ingredientes adicionados e suas respectivas cervejas.

Tabela 4. Relação entre os ingredientes adicionados em cada cerveja/amostra.

Cerveja/Amostra	Ingredientes*
1	4,5 g de lúpulo, 4,5 g de losna e 1,0 g de café verde (45/45/10)
2	4,5 g de lúpulo, 2,2 g de boldo, 0,2 g de erva-mate (65/33/2)
3	4,5 g de lúpulo, 2,5 g de losna (67/33)
4	3,5 g de boldo, 3,5 g de café verde, 1,5 g de losna e 1,0 g de erva-mate (37/37/16/10)

*Entre parênteses estão descritas proporções relativas a cada bebida.

4.5.2.5 Tratamento do mosto

Após a fervura, a solução deve ser submetida a processos de retirada de precipitado, resfriamento e posterior aeração. Devido a fabricação de cervejas do tipo *Pilsen*, a temperatura final do resfriamento atingiu valores entre 14-16 °C. Em seguida a aeração se procedeu por meio de técnica de transferência entre recipientes.

4.5.2.6 Fermentação

Após o resfriamento da solução, atingindo temperatura entre 14-16 °C, iniciou-se a fermentação com a adição de levedura, do tipo *Lager*, em concentração de 2 g/L. Nesta etapa, o volume total das bebidas obtidas foi de 4,0 L. A fermentação teve duração de 10 dias e seu acompanhamento foi realizado verificando o final do borbulhamento de CO₂ no airlock. O controle de temperatura foi realizado por meio da utilização de estufa incubadora com foto período. A temperatura foi controlada de acordo com ficha de dados disponibilizada pelo fornecedor da levedura (LALLEMAND, 2011). A Figura 17 apresenta o controle da temperatura.

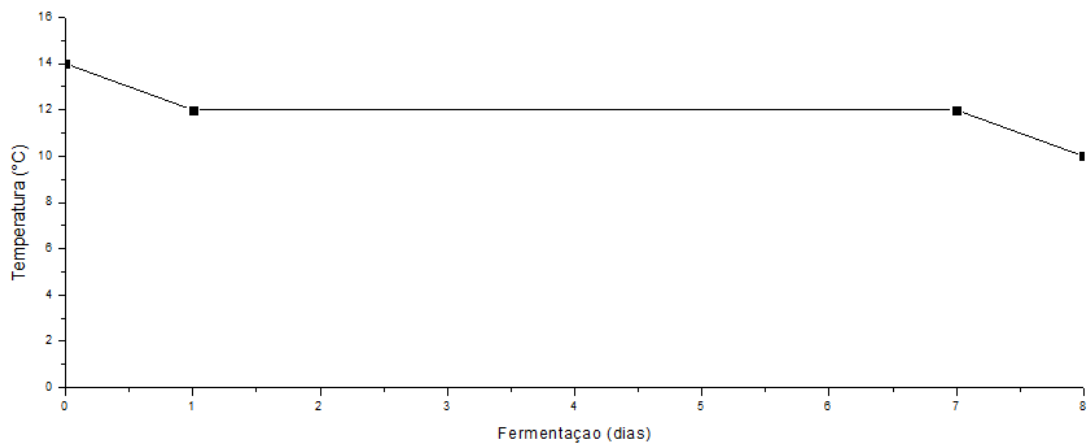


Figura 17. Controle da temperatura durante fermentação. Nota: Em preto está representada a rampa de temperatura sugerida pelo fornecedor. Fonte: Ficha de dados Lallemand, 2011.

A Figura 18 ilustra o sistema utilizado na fermentação das bebidas elaboradas. O sistema é composto por recipiente de vidro âmbar, acoplado à um airlock de polietileno por meio de uma rolha de borracha.



Figura 18. Sistema utilizado para fermentação. Fonte: Próprio autor.

4.5.2.7 Maturação

Após a finalização da fermentação, procedeu-se a trasfega com a finalidade de retirar o precipitado. Em seguida as bebidas foram transferidas para um frasco de vidro âmbar e

maturadas durante 11 dias, com temperatura controlada entre 1 e 3 °C em estufa incubadora com foto período.

4.5.2.8 Carbonatação

Após maturada e trasfegada, as bebidas foram gaseificadas por meio do método priming. Para tal, adicionou-se açúcar, do tipo sacarose, e levedura em concentração de 5,0 g/L e 0,6 g/L, respectivamente e iniciou-se a refermentação na garrafa. Durante 7 dias as bebidas foram deixadas a temperatura ambiente e durante 2 dias foram resfriadas a temperaturas entre 1 e 3 °C. O açúcar utilizado foi do tipo refinado especial, adquirido em comércio local. A levedura utilizada já foi especificada no item 4.6.1.4. Após a carbonatação as bebidas estavam prontas para o consumo e análise sensorial.

4.6 Avaliação dos parâmetros físico-químicos das cervejas produzidas.

Com o objetivo de verificar os parâmetros físico-químicos das bebidas, foram realizadas análises de pH e determinação de unidades de amargor. A determinação do pH seguiu procedimento descrito no item 4.4.1.

4.6.1 Determinação de unidades de amargor

O método para mensurar o amargor de cervejas utiliza a medida espectrofotométrica das substâncias responsáveis pelo amargor do lúpulo, os alfa e beta ácidos. O resultado é expresso em Unidades de Amargor (UB). Apesar do método de determinação do amargor ser padronizado para cervejas com lúpulo, o procedimento experimental pode também ser utilizado com bebidas com adição de ervas amargas. Dessa forma, todas as cervejas elaboradas no projeto foram submetidas ao procedimento experimental padronizado para o lúpulo.

As unidades de amargor foram determinadas por meio da extração de substâncias amargas da cerveja com isooctano (2,2,4-trimetilpentano). Um volume de 20 mL de cada amostra foi previamente acidificada pela adição de 0,5 mL de HCl 6,0 M e misturadas com 20,0 mL de isooctano. Em seguida procedeu-se medição espectrofotométrica no comprimento de onda de 275 nm conforme metodologia descrita por Philpott, Taylor e Williams (1997).

4.7 Análise sensorial

Esta pesquisa teve seu projeto avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO/PR (Parecer n° 1613547).

Foram informados aos participantes detalhes sobre a pesquisa, os possíveis riscos e desconfortos, benefícios, formas de assistência visando assegurar-lhes total confidencialidade. Esses foram convidados a participar da pesquisa, sendo selecionados apenas aqueles que manifestaram seu consentimento assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme Resolução N° 196/96 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2003).

O TCLE foi entregue a cada voluntário, sendo excluído o participante que não preencheu o termo mencionado (ANEXO A).

4.7.1 Testes sensoriais

As bebidas preparadas foram submetidas à análise sensorial com a finalidade de averiguar os perfis de atributo, atitude e preferência e a aceitação global. Os julgadores realizaram os testes em cabines individualizadas, equipadas com luz branca, em temperatura ambiente. Cada provador recebeu as bebidas em copo descartável transparente, codificados com algarismos de três algarismos escolhidos de forma aleatória, água mineral para limpeza da cavidade bucal entre cada amostra e a ficha do teste correspondente (ANEXO B). A análise sensorial ocorreu no período da manhã, entre as 9 h e 11 h, e no período da tarde, entre as 14 h e 16 h (QUEIROZ e TREPTON, 2006).

A primeira fase da análise sensorial teve a participação de sessenta e um indivíduos, entre alunos funcionários e professores da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), idades entre 18 e 55 anos. Os participantes se declararam consumidores de cerveja, consumindo, no mínimo, um litro de cerveja por semana.

Durante a análise foi aplicado o teste do perfil de atributo, que consistiu na avaliação das propriedades sensoriais da bebida, tais como, aparência, aroma, sabor amargor e cor. Para esse foi utilizada uma escala hedônica estruturada de nove pontos, tendo como limites nove (gostei extremamente) e um (desgostei extremamente). Utilizando a mesma escala, foi avaliado também a aceitação global de cada amostra.

Foi averiguado, utilizando o teste de intenção de compra, o perfil de atitude. Esta avaliação consistiu na avaliação da possibilidade de aquisição das amostras. Nesse contexto, os provadores foram solicitados a indicar o número da amostra correspondente a sua intenção de compra. Utilizou-se uma escala hedônica estruturada de cinco pontos, tendo como limites 5 (certamente compraria) e 1 (certamente não compraria).

O perfil de preferência foi avaliado por meio de questionamento descritivo. Para esse, solicitou-se aos provadores que indicassem a amostra preferida. Em adição, requisitou-se aos julgadores a elaboração de um comentário que explicasse sua preferência.

4.8.2 Análise estatística

Todos os resultados da análise sensorial foram analisados por meio da Análise de Variância (ANOVA), sendo reportados na forma de média e desvio padrão. As médias obtidas foram submetidas ao teste de comparação de médias, pelo teste Tukey, no nível de significância de 5%, utilizando o software livre Assistat 7.7 (SILVA, 2002).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros físico-químicos dos extratos aquosos elaborados.

Uma das etapas mais importantes do processo de produção da cerveja é a fervura. É neste passo em que o lúpulo, o principal responsável pelo amargor e aroma, é adicionado. Na literatura são encontrados diversos trabalhos que relatam a importância da fervura ao processo de produção de cerveja. Segundo Marcondes (2014) a fervura tem por objetivo eliminar o excesso de água, decantar proteínas, esterilizar o mosto, evaporar compostos indesejáveis, inativar enzimas e delegar o sabor amargo característico do produto final (Cervejeira & Brassagem, 2010). Usualmente a etapa de fervura tem duração de 120 minutos (FILHO, 2010). Durante a fervura os α e β ácidos são isomerizados, aumentando seu amargor e sua solubilidade (ALMEIDA, 2011). A Figura 19 ilustra este tipo de isomerização.

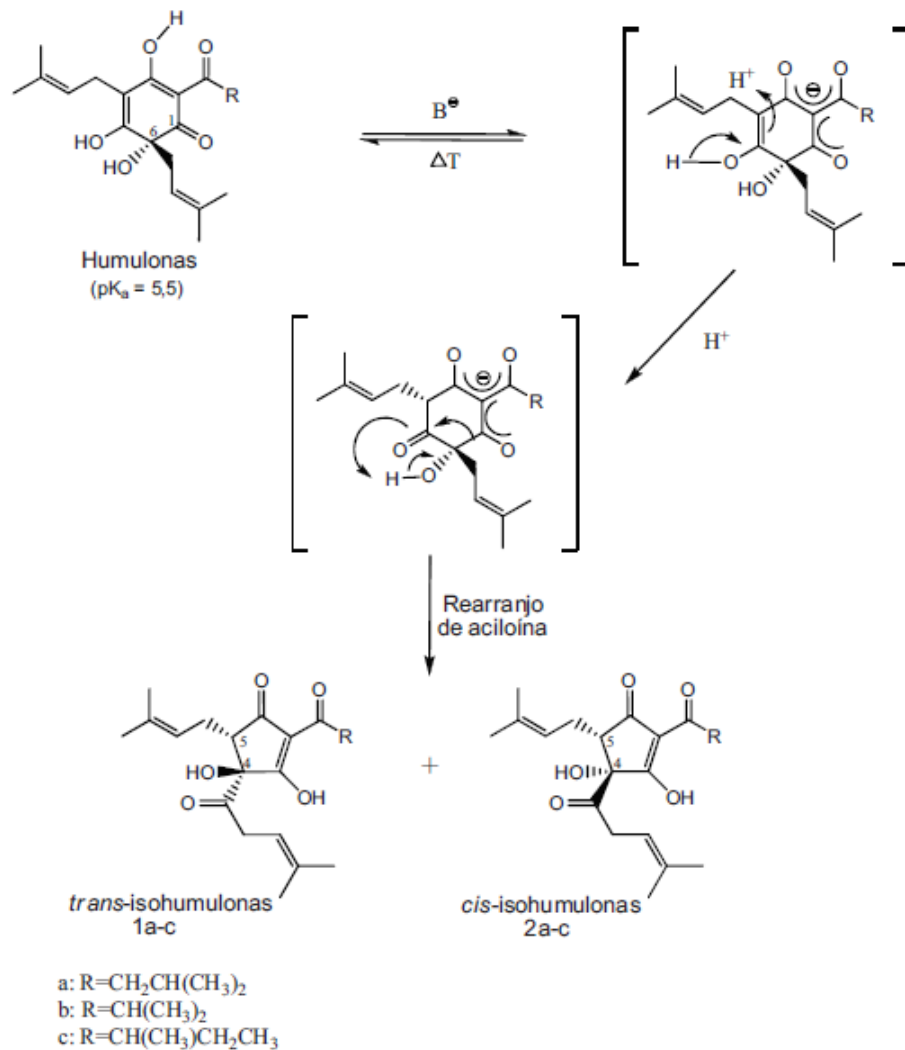


Figura 19. Reação de isomerização térmica dos α ácidos durante o cozimento do mosto. Nota: A relação entre *cis* e *trans* isohumulonas em condições normais na fabricação da cerveja é de 32:68. (A) *isso-n*-humulona, (B) isocohumulona e (C) isoadhumulona. Fonte: Almeida (2011)

Durante a etapa de fervura, espera-se que o valor do pH diminua, reduzindo cerca de 0,20 - 0,25 unidades (Cervejeira & Brassagem, 2013). Os ácidos orgânicos, subproduto das etapas do processo cervejeiro, são responsáveis pelo sabor suavemente ácido da bebida (ARAÚJO, SILVA e MINIM, 2003).

Nesse contexto, os parâmetros físico-químicos foram avaliados com a finalidade de estudar a possibilidade de inserção das matérias-primas no processo cervejeiro. Para tal foram preparados extratos aquosos com a adição de matérias-primas (boldo, losna, erva-mate, café-verde e lúpulo) visando simular a etapa de fervura do processo de fabricação de cerveja. Dessa forma, os extratos foram preparados em concentração de 2,5 g/L, similar a proporção de lúpulo

presente na cerveja do tipo *Pilsen*. A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos na avaliação dos parâmetros físico-químicos do lúpulo e das matérias-primas alternativas.

Tabela 5. Parâmetros físico-químicos avaliados nos extratos aquosos e suas respectivas matérias-primas.

Matéria-prima	Amostra	pH	Acidez total (mEq/L)	Acidez titulável
Lúpulo	A	5,56 ± 0,29 ^{de}	6,81 ± 0,10 ^d	0,42 ± 0,04 ^{bc}
	B	5,27 ± 0,25 ^{ef}	7,21 ± 0,09 ^{cd}	0,41 ± 0,04 ^{bc}
	C	5,09 ± 0,24 ^{fg}	7,58 ± 0,08 ^{abc}	0,43 ± 0,03 ^{ab}
Boldo	A	6,23 ± 0,15 ^b	3,39 ± 0,04 ⁱ	0,20 ± 0,02 ^f
	B	4,90 ± 0,19 ^{gh}	7,99 ± 0,08 ^{ab}	0,46 ± 0,03 ^{ab}
	C	4,67 ± 0,21 ^h	8,12 ± 0,05 ^a	0,49 ± 0,05 ^a
Losna	A	5,73 ± 0,09 ^{cd}	5,66 ± 0,05 ^f	0,34 ± 0,02 ^d
	B	5,03 ± 0,11 ^{fg}	6,12 ± 0,02 ^{ef}	0,37 ± 0,02 ^{cd}
	C	5,07 ± 0,07 ^{fg}	6,19 ± 0,03 ^e	0,37 ± 0,03 ^{cd}
Erva-mate	A	5,91 ± 0,13 ^c	5,97 ± 0,11 ^{ef}	0,35 ± 0,04 ^d
	B	5,31 ± 0,19 ^{ef}	7,49 ± 0,09 ^{bc}	0,45 ± 0,05 ^{ab}
	C	5,12 ± 0,16 ^{fg}	7,72 ± 0,08 ^{ab}	0,46 ± 0,03 ^{ab}
Café-verde	A	6,82 ± 0,28 ^a	4,37 ± 0,02 ^h	0,24 ± 0,02 ^{ef}
	B	6,42 ± 0,29 ^b	4,70 ± 0,04 ^g	0,26 ± 0,04 ^e
	C	6,28 ± 0,26 ^b	4,95 ± 0,02 ^g	0,28 ± 0,02 ^e

NOTA: Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$). Amostra A indica tempo de extração aquosa da respectiva matéria-prima igual a 30 minutos. Amostra B indica tempo de extração aquosa da respectiva matéria-prima igual a 60 minutos. Amostra C indica tempo de extração aquosa da respectiva matéria-prima igual a 120 minutos.

As amostras A e C, referentes ao lúpulo, apresentaram diferenças significativas em relação ao parâmetro de pH, acidez total e titulável ($p < 0,05$). Este fato indica que o tempo de extração influencia diretamente os valores do pH dos extratos de lúpulo. Sendo assim, o

resultado sugere que o desdobramento da etapa de fervura do processo cervejeiro, influencia significativamente os parâmetros avaliados.

Esta tendência também foi observada nas amostras A e C referentes a todas as matérias-primas estudadas. Indicando que o pH, a acidez total e titulável de extratos de boldo, de losna, de café verde e de erva-mate são influenciados pelo tempo de extração. Os resultados corroboram para inserção das ervas amargas no processo cervejeiro, já que a resposta geral dos parâmetros foi similar entre as matérias-primas.

O pH tem influência direta na etapa subsequente à fervura, que é a fermentação. A eficiência da fermentação está intimamente ligada ao pH da solução (Cervejeira & Brassagem, 2013). Apesar de existirem processos de correção de pH pós fervura, a matéria-prima que apresentar valores próximos aos ideais da fermentação (pH = 5,1) se destaca (FILHO, 2010). Dessa forma, avaliando os resultados da Tabela 5, é possível concluir que o tempo ótimo de extração, isto é, aquele que se aproxima do pH ideal é de 60 minutos, correspondente a amostra B. A escolha desse tempo ocorreu devido as amostras B e C, de todos os extratos preparados, não terem apresentado diferença significativa entre si. Indicando que o valor de pH não alterou significativamente entre os tempos de extração de 60 e 120 minutos.

As matérias primas avaliadas no presente trabalho também apresentam propriedades benéficas à saúde. Por exemplo, o boldo tem reconhecido efeito antioxidante, anti-inflamatório e hepatoprotetor, sendo assim utilizado para tratamento de doenças gastrointestinais e hepáticas (NUTRI, 2015). A losna tem sido estudada devido as suas propriedades antifúngicas, antibacterianas e digestivas (ARIÑO *et al.*, 1999). Onakpoya *et al.* (2010) estudaram a eficácia de extratos de café verde utilizados como suplemento em dietas para perder peso. Os resultados se mostraram promissores, visto que o extrato auxiliou a liberação de gordura das células de um camundongo. Shimoda, Seki e Aitani (2006) estudaram o efeito inibitório de extratos de café verde na acumulação e no ganho de peso em camundongos. Os resultados indicaram que o extrato de café verde é efetivo contra o ganho de peso e acumulação de gordura devido a inibição da absorção de gordura e da ativação do metabolismo de gorduras no fígado.

Tradicionalmente, a erva-mate é utilizada na preparação de bebidas quentes e frias, a qual é apreciada devido a seu amargor peculiar e a suas propriedades estimulantes. Na medicina tradicional, infusões preparadas com a erva têm sido utilizadas para o tratamento de doenças hepáticas e digestivas, arritmia, reumatismo e outros distúrbios inflamatórios (ANDRADE, ALBUQUERQUE e MARASCHIN, 2012; HUSSEIN *et al.* 2011).

Em decorrência das propriedades benéficas de cada matéria-prima, sugere-se que a elaboração de uma bebida com sua adição poderá causar os mesmos efeitos ou até mesmo potencializá-los.

5.1.1 Análise cromatográfica dos extratos

Os extratos orgânicos A, B e C de boldo, losna, café verde e erva-mate foram submetidos às análises cromatográficas. Os extratos orgânicos foram elaborados por meio da extração líquido-líquido com acetato de etila. Em decorrência do detector utilizado, a identificação dos picos mais intensos foi realizada pela comparação com a literatura já existente.

Os cromatogramas obtidos referentes aos extratos de losna, café verde e erva-mate foram inconclusivos, devido à ausência de picos característicos. A Figura 20 exemplifica os cromatogramas dos extratos orgânicos “A” das respectivas matérias-primas citadas. As condições experimentais podem ter sido a razão pela qual não foi possível notar o aparecimento de picos nos cromatogramas citados.

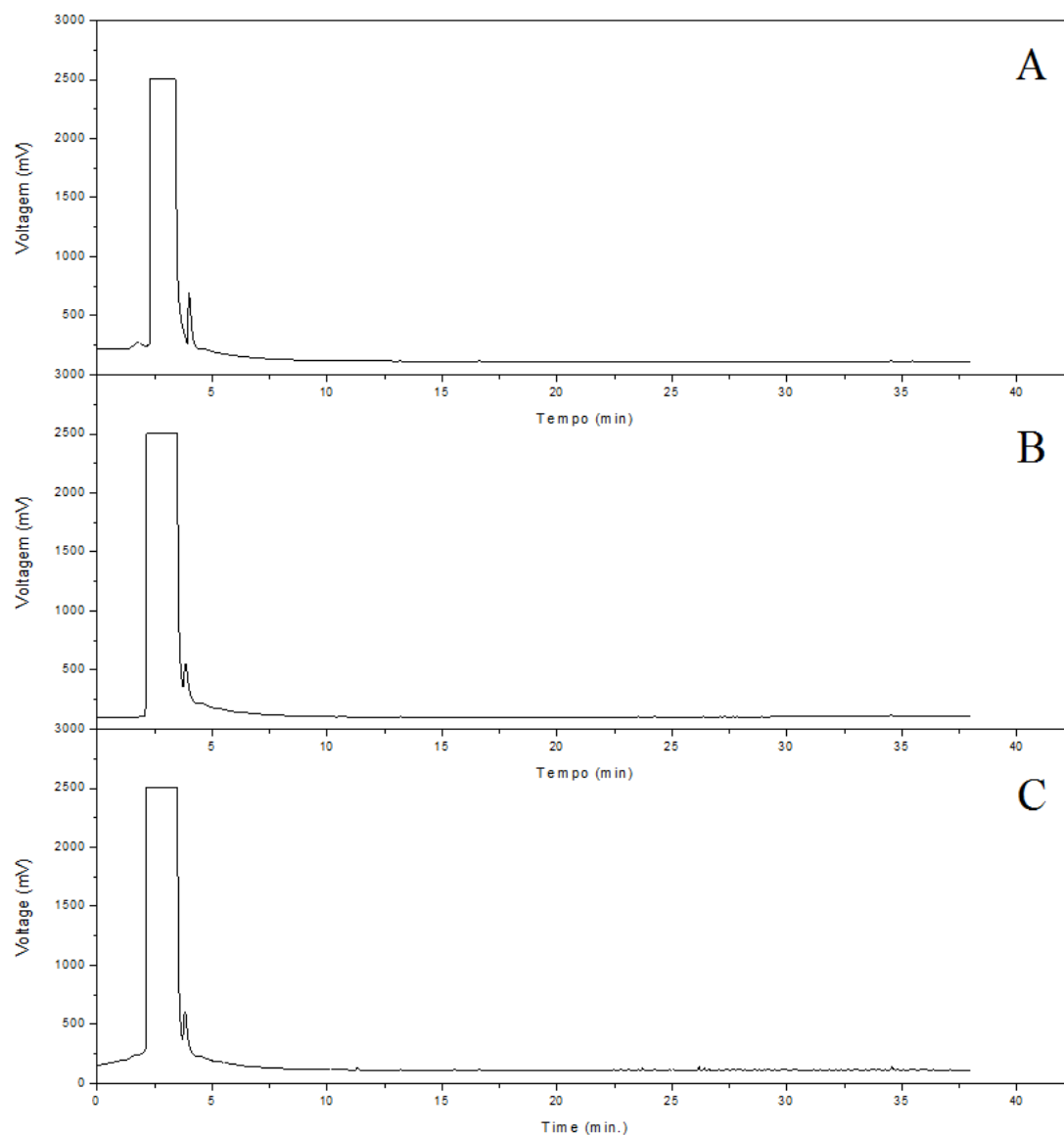


Figura 20. Cromatogramas obtidos por CG-FID para os extratos orgânicos de (A) losna, (B) café verde e (C) erva-mate.

NOTA: As condições experimentais foram de 30 minutos de extração, referentes à amostra A de cada extrato.

5.1.1.1 Boldo

A Figura 21 apresenta os cromatogramas referentes as amostras A, B, e C dos extratos orgânicos de boldo sem ampliação. A Figura 21 apresenta os cromatogramas referentes as mesmas amostras, porém ampliados.

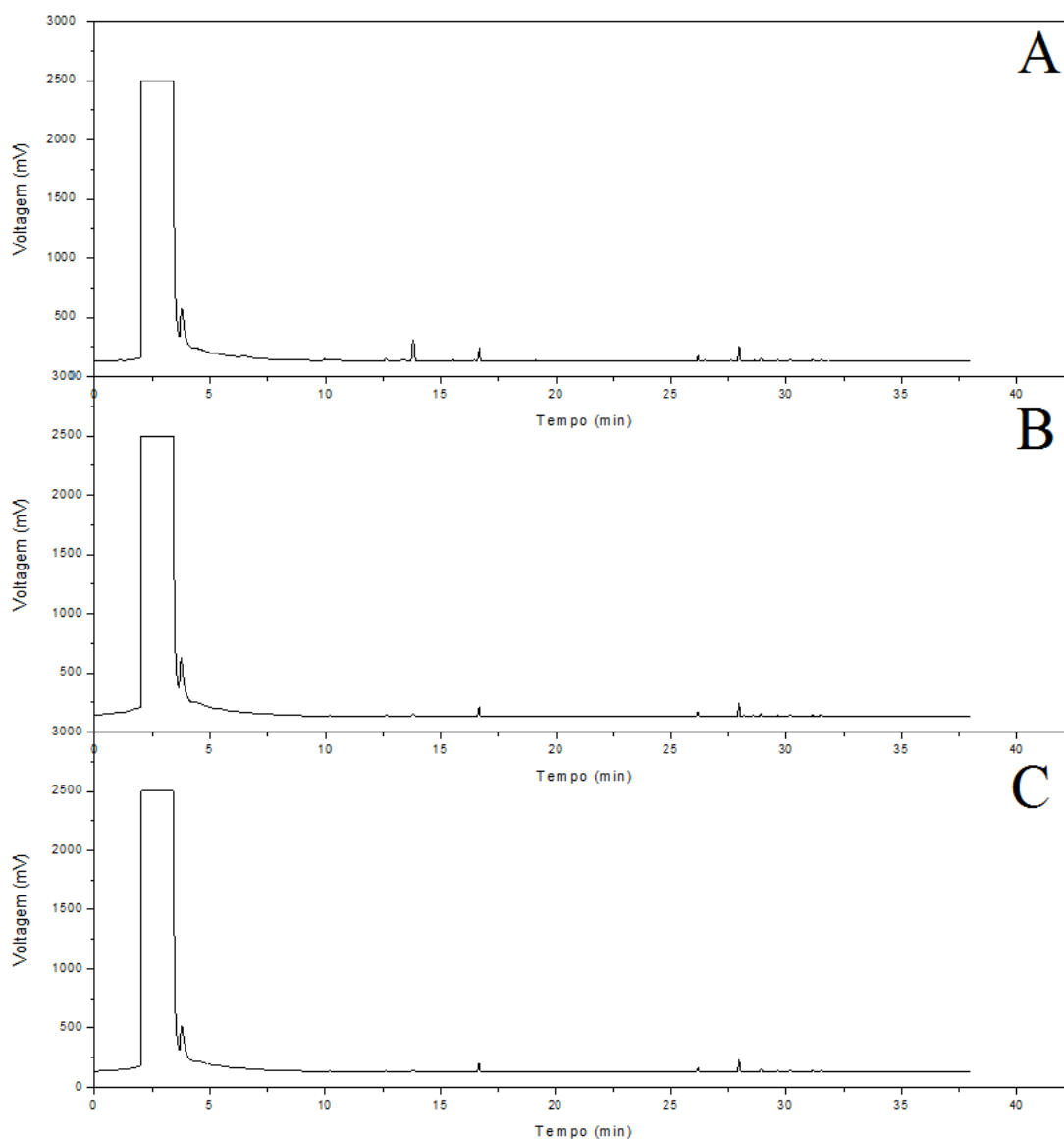


Figura 21. Cromatogramas obtidos por CG-FID para os extratos orgânicos de boldo referentes as amostras (A) tempo de extração igual a 30 minutos, (B) tempo de extração igual a 60 minutos e (C) tempo de extração igual a 120 minutos.

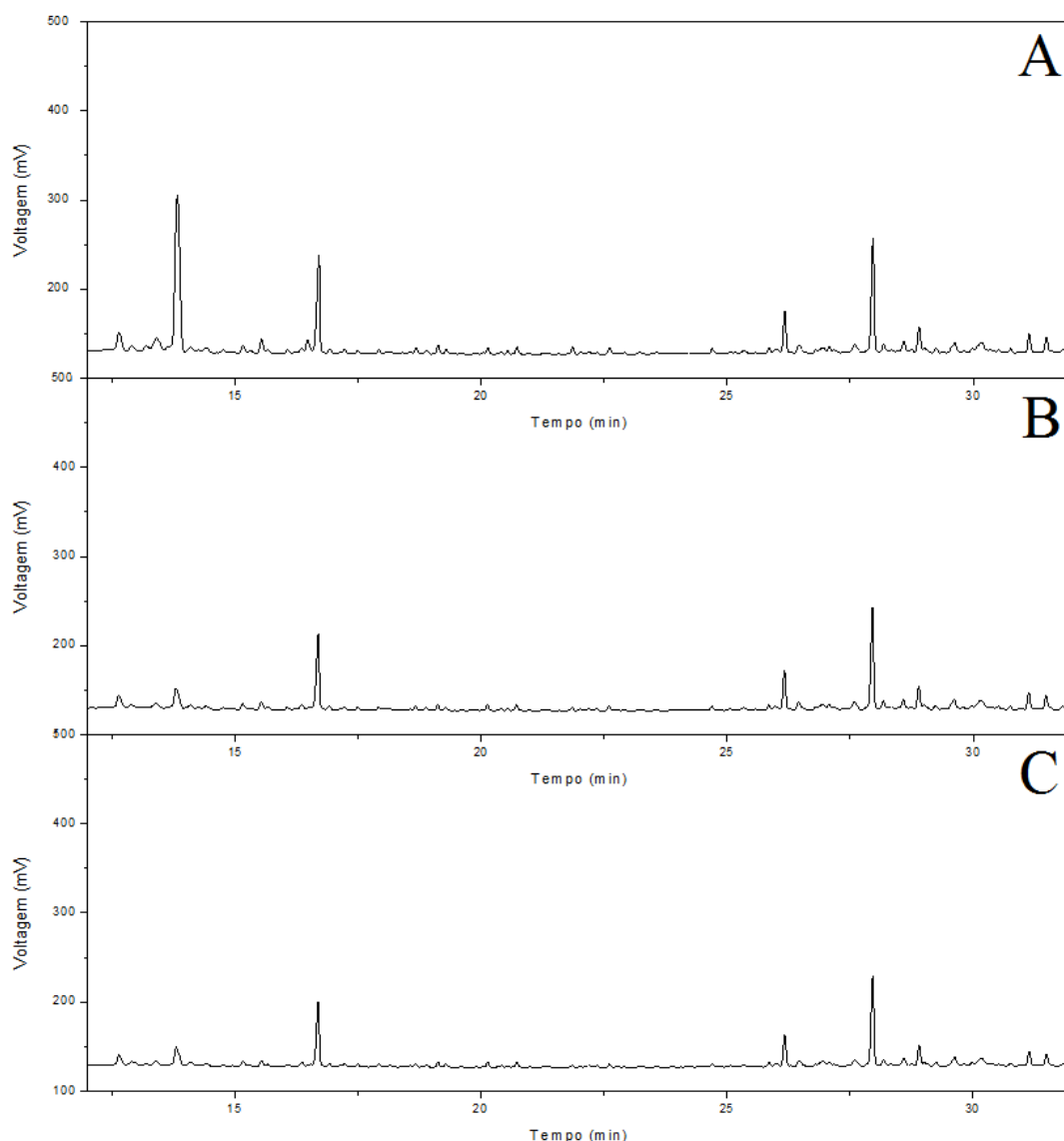


Figura 22. Cromatogramas ampliados obtidos por CG-FID para os extratos orgânicos de boldo referentes as amostras (A) tempo de extração igual a 30 minutos, (B) tempo de extração igual a 60 minutos e (C) tempo de extração igual a 120 minutos.

Um dos objetivos da etapa de fervura no processo cervejeiro é a evaporação de voláteis, sendo esses indesejáveis (DMS) ou desejáveis (SANTOS *et al.*, 2008; ZANOLI, 2008). Os cromatogramas indicam a evaporação de um composto, referente ao pico em 13,5 minutos, durante o desdobramento da fervura. Nesse sentido, a isolamento do composto referido torna-se uma alternativa para identificação de sua estrutura. Vila *et al.* (1999) determinaram a composição e a atividade antioxidante do óleo essencial das folhas de boldo. Em seu estudo, os

autores referidos identificaram os compostos utilizando CG-FID e CG-MS. As condições experimentais utilizadas foram similares as utilizadas no presente trabalho. Os principais constituintes do óleo essencial foram monoterpenos. Dentre os monoterpenos identificados, o limoleno (17%), *p*-cymeno (13,6%) e 1,8-cineole (11,8%) se destacaram. Os resultados cromatográficos indicam que o tempo de extração pode alterar o perfil cromatográfico do extrato. Um maior tempo de extração indica a possibilidade de degradação ou evaporação de algum composto presente na amostra. Como ilustrado nos cromatogramas na Figura 22.

5.1.2 Atividade antioxidante

O lúpulo é a matéria-prima do processo cervejeiro responsável por conferir amargor e aroma à cerveja. Esta planta também auxilia a estabilização da espuma, graças a presença dos iso- α -ácidos. Além disso, o lúpulo é responsável por conservar a cerveja, devido ao seu potencial antimicrobiano (ZANOLI; ZAVATTI, 2008). A Figura 23 ilustra os resultados obtidos para os ensaios antioxidantes para os extratos de losna, boldo, erva-mate, café verde e lúpulo.

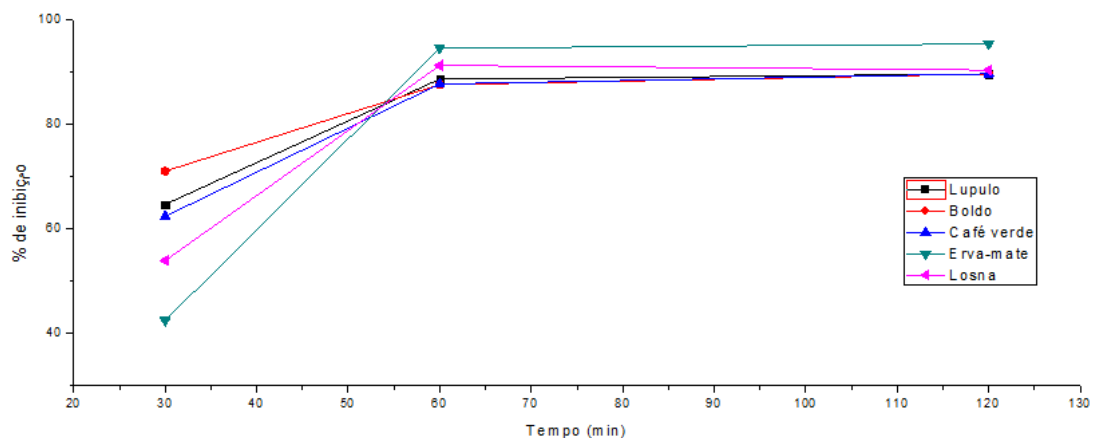


Figura 23. Ensaio antioxidante referentes aos extratos aquosos de lúpulo, boldo, café verde, erva-mate e losna.

Os resultados obtidos indicam que o aumento do tempo de extração aumenta também a % de inibição, isto é, aumenta a capacidade antioxidante dos extratos. Os tempos ótimos de extração variaram entre 60 e 120 minutos. Com a intenção de reduzir gastos do processo

cervejeiro, o tempo ótimo de extração foi igual a 60 minutos. As linhas foram traçada com o objetivo de evidenciar a tendência crescente da atividade antioxidante em função do tempo.

Esta conclusão foi realizada devido a resposta proveniente da aplicação do teste Tukey, de comparação de médias, conforme ilustrado na Tabela 6.

Tabela 6. Resultados obtidos de inibição percentual dos extratos avaliados.

Amostra	Lúpulo (%)	Boldo (%)	Café verde (%)	Erva-mate (%)	Losna (%)
A	66,12 ±	72,17 ±	62,32 ±	42,36 ±	53,28 ±
	2,54 ^b	2,37 ^b	2,62 ^b	2,09 ^b	0,99 ^b
B	89,83 ±	87,43 ±	88,69 ±	95,18 ±	90,79 ±
	2,15 ^a	2,09 ^a	1,87 ^a	1,96 ^a	1,33 ^b
C	88,95 ±	89,51 ±	90,67 ±	96,87 ±	90,91 ±
	2,69 ^a	1,37 ^a	2,08 ^a	1,47 ^a	1,21 ^b

NOTA: As amostras A, B e C são referentes aos tempos de extração igual a 30, 60 e 120 minutos, respectivamente. Letras iguais na coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Não foram observadas diferenças significativas entre as amostras B e C, referentes aos tempos de extração de 60 e 120 minutos, indicando a similaridade entre os valores. Sendo assim, o tempo ótimo de extração foi determinado como igual a 60 minutos, em decorrência da economia energética, financeira e de tempo.

Pinheiro (2011) estudou a atividade antioxidante de extratos hidro alcóolicos de losna (*Atemisia absinthium*). Os extratos foram submetidos ao procedimento de DPPH. Os resultados indicaram que a planta demonstrou poder antioxidante significativo e superior aos antioxidantes artificiais como hidroxitolueno butilado (BHT) ou 3-terc-butil-4-hidroxianisol (BHA). Apesar da diferença entre metodologias (ABTS e DPPH) observou-se semelhanças em relação ao resultado obtido, visto que o índice de inibição foi elevado.

Abrahão *et al.* (2012) estudou a atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro* de bebidas preparadas com café verde. O método utilizado foi o DPPH. Os resultados dos ensaios *in vitro* sugeriram que o café verde apresenta atividade antioxidante similares às do antioxidante padrão amplamente utilizado, Trolóx. Os resultados dos ensaios *in vivo* indicaram que o café verde protege o fígado e os rins dos animais contra lipoperoxidação comumente presente em quadros de diabetes tipo 2.

Morais *et al.*(2009) avaliou a ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. Dentro os chás avaliados, o boldo obteve maiores índices de atividade antioxidante se comparado à camomila, capim santo, carqueja, cidreira e hortelã. O método utilizado foi o DPPH. Sendo assim, os resultados obtidos pelos referidos autores indicam que infusões de boldo apresentam, assim como no presente trabalho, elevados índices antioxidantes.

Boaventura (2010) avaliou a atividade antioxidante da erva-mate em indivíduos com dislipidemia. Para tal, indivíduos com o distúrbio citado, foram submetidos ao tratamento pela ingestão prolongada de erva-mate na forma de infusões. Sendo assim, os resultados indicaram que o grupo tratado com erva-mate apresentou maiores índices antioxidantes e hipolipemiante se comparado ao grupo de controle.

O estudo dos extratos permitiu a avaliação dos parâmetros físico-químicos de extratos aquosos preparados com as respectivas matérias-primas. Com base nos resultados parciais, elegeu-se como sendo o tempo ótimo de extração igual a 60 minutos, pois este não apresentou diferença significativa em relação ao tempo de 120 minutos. Em adição, o tempo de extração igual a 60 minutos obteve resultados que se aproximaram dos valores do lúpulo ou dos valores ideais de cada parâmetro.

Portanto, durante a realização do planejamento de misturas simplex centroide estipulou-se um tempo fixo de 60 minutos por extração, com a finalidade de delimitar a dosagem ideal que melhor respondesse aos parâmetros a ser avaliados.

5.2 Planejamento de misturas simplex centroide

Para estabelecer qual a composição de extratos de ervas amargas seria a mais apropriada para a substituição parcial do lúpulo na fabricação de cerveja do tipo *Pilsen* foram aplicados dois planejamentos de misturas do tipo simplex centroide. No primeiro planejamento foram estudadas proporções variando de 0 a 100% dos extratos de ervas amargas lúpulo, losna e café verde e no segundo planejamento proporções variando também de 0 a 100% de extratos das ervas amargas lúpulo, boldo e erva-mate e os resultados destes planejamentos são apresentados nas Tabelas 7 e 10. Para gerar os modelos foi realizada uma análise de variância (ANOVA) característica da regressão linear e os resultados são apresentados nas Tabelas 8 e 9. Além disso, coeficientes de determinação ($R^2 \geq 80\%$) também foram utilizados como um critério de ajuste dos modelos.

Planejamentos do tipo simplex centroide vem sendo utilizados em inúmeros campos da ciência. Borsato *et al.* (2010) estudou a cinética da oxidação de biodiesel B100 em mistura com antioxidantes sintéticos, utilizando planejamento simplex centroide. O tratamento contendo terc-butilhidroquinona, um dos três antioxidantes avaliados, apresentou-se sendo o mais efetivo.

Na área da análise sensorial, por exemplo, planejamentos desse tipo vem sendo cada vez mais estudados. Santos *et al.* (2015) utilizou metodologia de superfície de resposta para caracterizar sensorialmente massa alimentícia com substituição parcial de farinha de trigo por farinha de arroz, aveia e soja. Córdova (2012) utilizou planejamento mistura simplex centroide para avaliar sensorialmente barras de cereais contendo grãos de trigo fermentado com *Agaricus brasiliensis* e minerais. Martinbianco *et al.* (2013) avaliou sensorialmente pães elaborados a partir de culturas *startes* inovadoras. Para tal utilizou delineamento de mistura simplex centroide.

Menezes, Lisboa e Santana (2007) utilizaram o planejamento experimental aplicado ao estudo de misturas para avaliar a potencialidade do uso conjunto dos resíduos do beneficiamento do caulim e da serragem do granito para produção de blocos e revestimentos.

5.2.1 Planejamento de misturas simplex centroide aplicado na otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, losna e café verde)

A Tabela 7 ilustra o planejamento de misturas simplex centroide utilizada na otimização das proporções de ervas amargas (lúpulo, losna e café verde) e suas respectivas respostas.

Tabela 7. Matriz do planejamento de misturas simplex centroide aplicado na otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, losna e café verde) para aplicação na formulação de cerveja *Pilsen*.

Componentes*			Parâmetros Físico-Químicos			
X1	X2	X3	pH	Acidez (mEq/L)	Fenólicos (mg/L)	% de inibição
1	0	0	5,5	8,9	140,09	99,28
0	1	0	6,3	6,9	71,2	86,25
0	0	1	6,9	5,9	126,15	97,04
½	½	0	6,0	5,9	131,94	99,50
½	0	½	6,5	7,9	150,46	99,28
0	½	½	6,3	8,9	197,12	98,03
⅓	⅓	⅓	6,1	7,9	163,79	99,17
⅓	⅓	⅓	6,0	8,9	161,57	99,05
⅓	⅓	⅓	6,1	7,9	166,01	99,28

*X1= extrato de lúpulo; X2 = extrato de losna e X3 = extrato de café verde

A Tabela 8 mostra os resultados de análise de variância proveniente do planejamento simplex centroide aplicado.

Tabela 8. Análise de variância dos modelos obtidos para a otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, losna e café verde).

pH					
Fonte de Variação	SQ	gl	MD	F	R²
Modelo linear	0,9640	2	0,4820	12,86	74,8
Resíduos	0,2249	6	0,0375		
Total	1,1889	8			
Acidez (mEq/L)					
Fonte de Variação	SQ	gl	MD	F	R²
Modelo quadrático	10,568	5	2,114	6,42	77,2
Resíduos	0,987	3	0,329		
Total	11,556	8			
Fenólicos (mg/L)					
Fonte de Variação	SQ	gl	MD	F	R²
Modelo quadrático	9655,2	5	1931,0	37,29	95,8
Resíduos	155,3	3	51,78		
Total	9810,6	8			
% de Inibição					
Fonte de Variação	SQ	gl	MD	F	R²
Modelo cúbico especial	145,7	6	24,28	1834,8	99,9
Resíduos	0,026	2	0,0132		
Total	145,71				

Os resultados da ANOVA característica da regressão linear mostraram que todos os modelos gerados para as respostas pH, acidez, fenólicos e porcentagem de inibição para o planejamento de misturas de extratos de lúpulo, losna e café verde foram significativos no nível de 95% de confiança pois os valores de $F_{regressão}$ foram superiores aos respectivos valores de $F_{crítico}$ com $p < 0,05$. A análise dos coeficientes de determinação demonstrou que os modelos gerados para as respostas concentração de fenólicos e porcentagem de inibição(%) foram mais relevantes, pois, apresentaram $R^2 \geq 80\%$. Foram ajustados diferentes tipos de modelos (linear, quadrático e cúbico especial) as respostas de acordo com a significância dos valores de $F_{regressão}$ (Tabela 8). Nas equações 1 a 4 são representados os modelos estatísticos ajustados para cada

resposta do planejamento de misturas, em que X_1 representa o extrato de lúpulo, X_2 o extrato de losna e X_3 o extrato de café verde.

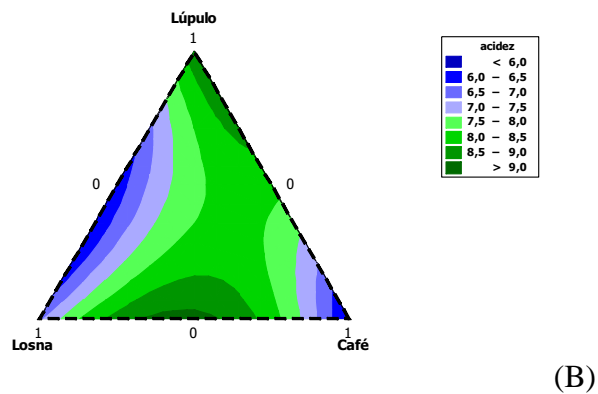
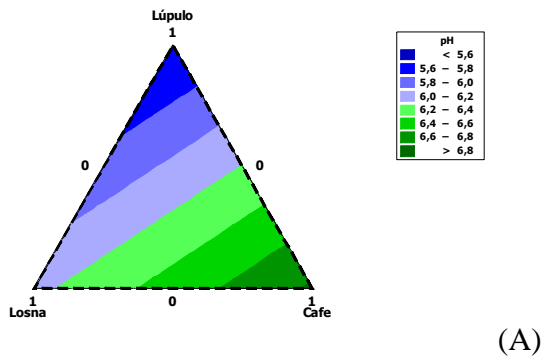
$$\text{pH} = 5,59X_1(\pm 0,16) + 6,15X_2(\pm 0,16) + 6,83X_3(\pm 0,16) \text{ Equação (1)}$$

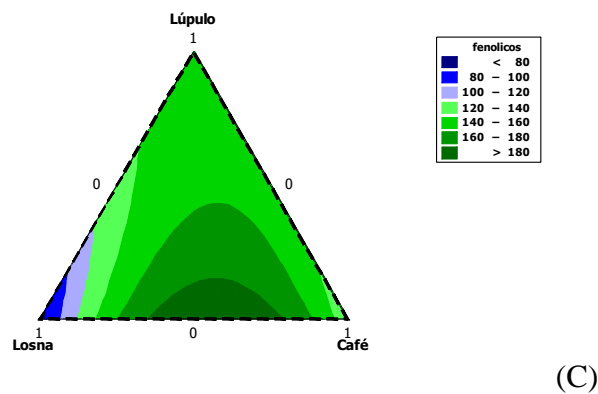
$$\text{Acidez} = 8,84X_1(\pm 0,57) + 6,84X_2(\pm 0,57) + 5,84X_3(\pm 0,57) + 11,28X_2X_3(\pm 2,49) \text{ Equação (2)}$$

$$\text{Fenólicos} = 141,5X_1(\pm 7,15) + 72,6X_2(\pm 7,15) + 127,5X_3(\pm 7,15) + 366,5X_2X_3(\pm 31,26) \text{ Equação (3)}$$

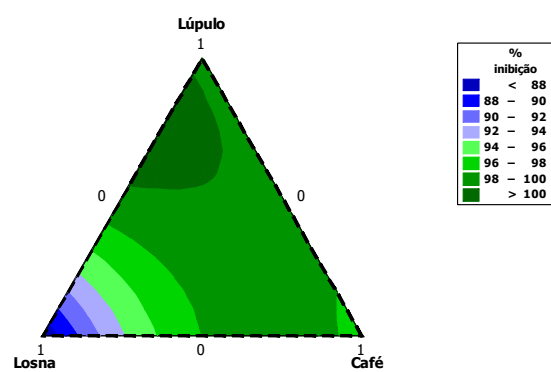
$$\begin{aligned} \% \text{ de inibição} = & 99,3X_1(\pm 0,12) + 86,2X_2(\pm 0,12) + 97,0X_3(\pm 0,12) + 26,9X_1X_2(\pm 0,56) + \\ & 4,48X_1X_3(\pm 0,56) + 25,5X_2X_3(\pm 0,56) - 36,5X_1X_2X_3(\pm 3,05) \end{aligned} \text{ Equação (4)}$$

As equações 1 a 4 foram usadas para gerar os gráficos de contorno para os modelos ajustados às respostas de pH, acidez, concentração de fenólicos e percentagem de inibição como ilustrado na Figura 24.





(C)



(D)

Figura 24. Gráficos de contorno para o planejamento de misturas de extratos de lúpulo, losna e café verde considerando as respostas de (A) pH, (B) acidez, (C) concentração de fenólicos (mg/L) e (D) porcentagem de inibição (%).

Albuquerque *et al.* (2007) aplicou planejamento de misturas simplex centroide com a finalidade de avaliar a relação entre propriedade e a composição de um sistema obtido a partir de matérias-primas naturais. O estudo permitiu especificar a região de composição que leva à maior densidade com um número relativamente pequeno de amostras.

Baseado nos gráficos de contorno é possível determinar proporções relativas a cada mistura que geram a melhor resposta, referente ao parâmetro avaliado. O gráfico (A) referente ao parâmetro pH indica que a mistura ótima, isto é, mistura que atinja valores próximos aos do lúpulo, é aquela que apresenta uma maior proporção de losna em relação ao café verde (aproximadamente 90% e 10%, respectivamente).

Entretanto o gráfico de contorno (B) referente à resposta de acidez indica que dosagem ótima, isto é, dosagem que obtenha perfil similar ao do lúpulo, é aquela que apresenta uma maior proporção de café verde em relação à losna (aproximadamente 60% e 40% respectivamente). Já o gráfico de contorno referente ao conteúdo de fenólicos (C) indica

proporção inversa, ou seja, aproximadamente 60% losna e 40% café. Porém avaliando os parâmetros de forma individual, a proporção das ervas varia. Para otimizar todos os parâmetros simultaneamente e definir qual a proporção de extratos das ervas amargas mais apropriada na fabricação de cerveja *Pilsen*, foi aplicada a função de desejabilidade.

Para essa otimização foi considerada a função global de desejabilidade que permitisse maximizar a % de inibição e a concentração de fenólicos e minimizar o pH e a acidez. Como melhor proporção de extratos de ervas amargas foi obtida a relação de 0,63 de lúpulo, 0,37 de losna e 0,00 de café verde. Como respostas previstas pela função foram obtidas uma porcentagem de inibição (%) de 100,72%, concentração de fenólicos de 138,9 mg/L, pH = 5,8 e acidez = 6,5 mEq/mL. Como função de desejabilidade global foi obtido um valor de $D = 0,82$ muito próximo de 1,0, indicando um bom ajuste das respostas previstas as respostas experimentais (porcentagem de inibição (%) = xx, concentração de fenólicos = 131,5 mg/L, pH = 5,8 e acidez (mEq/L) = 6,1).

Outra função de desejabilidade para otimização simultânea de respostas foi aplicada, visando definir outra proporção de extratos das ervas amargas. Para tal, foi considerada a função global de desejabilidade que permitisse maximizar a % de inibição e a concentração de fenólicos, minimizar a acidez e manter o pH = 6,0. Como melhor proporção de extratos de ervas amargas foi obtida a relação de 0,42 de lúpulo, 0,48 de losna e 0,10 de café. Como respostas previstas pela função foram obtidas uma porcentagem de inibição (%) de 98,9%, concentração de fenólicos de 142,2 mg/L. Como função de desejabilidade global foi obtido um valor de $D = 0,81$ muito próximo de 1,0, indicando um bom ajuste das respostas previstas as respostas experimentais (porcentagem de inibição (%) = 99,81 e concentração de fenólicos = 134,2 mg/L).

Portanto, aplicando a função de desejabilidade e avaliando simultaneamente as respostas foi determinado a proporção ótima de lúpulo, losna e café verde à ser utilizado no processo de fabricação de cerveja. A Tabela 9 elucida as proporções resultantes e suas respectivas nomeações.

Tabela 9. Proporção proveniente do planejamento de misturas suas respectivas nomeações

Cerveja/Amostra	Proporção utilizada na fabricação da cerveja
1	42% de lúpulo, 48% de losna e 10% de café verde
3	67% de lúpulo e 33% de losna

5.2.2 Planejamento de misturas simplex centroide aplicado na otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, boldo e erva-mate)

A Tabela 10 ilustra o planejamento de misturas simplex centroide utilizada na otimização das proporções de ervas amargas (lúpulo, boldo e erva-mate) e suas respectivas respostas.

Tabela 10. Matriz do planejamento de misturas simplex centroide aplicado na otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, boldo e erva-mate) para aplicação na formulação de cerveja tipo Pilsen.

Componentes*			Parâmetros Físico-Químicos			
X1	X2	X3	pH	Acidez (mEq/L)	Fenólicos (mg/L)	% de inibição
1	0	0	5,5	9,9	130,06	99,52
0	1	0	6,1	12,8	527,89	99,50
0	0	1	6,6	9,9	189,62	96,91
½	½	0	6,0	7,9	337,42	99,98
½	0	½	6,2	7,8	397,71	98,57
0	½	½	6,1	12,8	219,04	98,81
⅓	⅓	⅓	6,1	8,9	314,62	99,04
⅓	⅓	⅓	6,2	7,9	319,04	99,17
⅓	⅓	⅓	6,1	8,9	312,42	99,52

*X1= extrato de lúpulo; X2 = extrato de boldo e X3 = extrato de erva-mate

A Tabela 11 mostra os resultados de análise de variância proveniente do planejamento simplex centroide aplicado.

Tabela 11. Análise de variância dos modelos obtidos para a otimização de extratos de ervas amargas (lúpulo, boldo e erva-mate).

pH					
Fonte de Variação	SQ	gl	MD	F	R²
Modelo quadrático	0,632821	5	0,126564	52,9	97,0
Resíduos	0,007179	3	0,002393		
Total	0,640000	8			
Acidez					
Fonte de Variação	SQ	gl	MD	F	R²
Modelo cúbico especial	4127,3	6	687,9	2063,6	99,9
Resíduos	0,67	2	0,335		
Total	4127,9	8			
Fenólicos (mg/L)					
Fonte de Variação	SQ	gl	MD	F	R²
Modelo quadrático	110733,4	5	22146,7	274,2	99,4
Resíduos	242,3	3	80,8		
Total	110976	8			
%Inibição					
Fonte de Variação	SQ	gl	MD	F	R²
Modelo Linear	5,6200	2	2,8100	22,46	84,3
Resíduos	0,7507	6	0,1251		
Total	6,3708	8			

Novamente, os resultados da ANOVA característica da regressão linear mostraram que todos os modelos gerados para as respostas pH, acidez, fenólicos e porcentagem de inibição para o planejamento de misturas de extratos de lúpulo, boldo e erva-mate foram significativos no nível de 95% de confiança pois os valores de $F_{regressão}$ foram superiores aos respectivos valores de $F_{crítico}$ com $p < 0,05$. A análise dos coeficientes de determinação demonstrou que os modelos gerados para as respostas concentração de fenólicos, acidez, pH e porcentagem de inibição (%) foram todos relevantes, pois, apresentaram $R^2 > 80\%$. Foram ajustados diferentes tipos de modelos (linear, quadrático e cúbico especial) as respostas de acordo com a significância dos valores de $F_{regressão}$ (Tabela 11). Nas equações 5 a 8 são representados os

modelos estatísticos ajustados para cada resposta do planejamento de misturas, em que X_1 representa o extrato de lúpulo, X_2 o extrato de boldo e X_3 o extrato de erva-mate.

$$\text{pH} = 5,49X_1(\pm 0,05) + 6,09X_2(\pm 0,05) + 6,59X_3(\pm 0,05) \text{ Equação (5)}$$

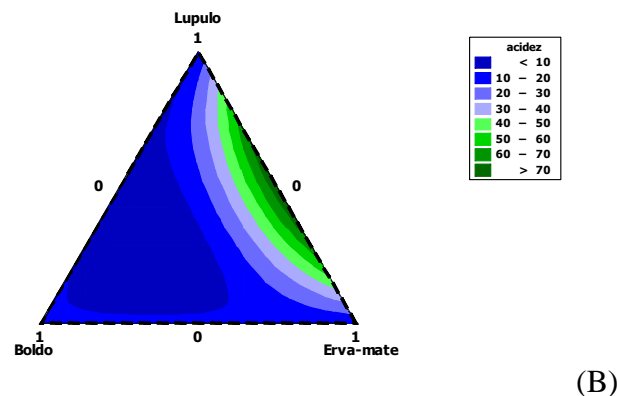
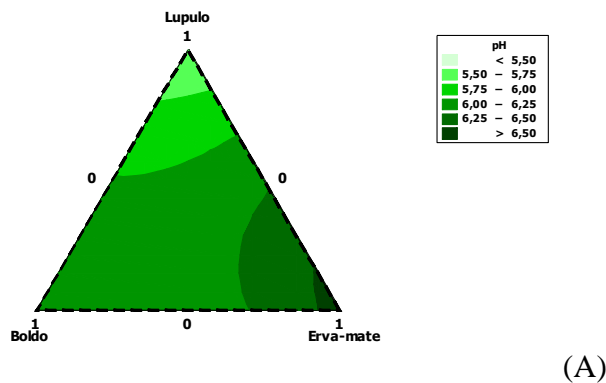
$$\begin{aligned} \text{Acidez} = & 9,90X_1(\pm 0,58) + 12,80X_2(\pm 0,58) + 9,90X_3(\pm 0,58) - 13,8X_2X_3(\pm 2,83) + \\ & 271,6X_1X_3(\pm 2,83) + 5,8X_2X_3(\pm 2,83) - 852,9X_1X_2X_3(\pm 15,3) \end{aligned}$$

$$\text{Equação (6)}$$

$$\begin{aligned} \text{Fenólicos} = & 131,7X_1(\pm 8,93) + 529,6X_2(\pm 8,93) + 191,3X_3(\pm 8,93) + 917,9X_1X_3(\pm 39,04) - \\ & 592,4X_2X_3(\pm 39,04) \end{aligned} \text{ Equação (7)}$$

$$\% \text{ de inibição} = 99,83X_1(\pm 0,28) + 99,91X_2(\pm 0,28) + 97,27X_3(\pm 0,28) \text{ Equação(8)}$$

As equações 5 a 8 foram usadas para gerar os gráficos de contorno para os modelos ajustados às respostas de pH, acidez, concentração de fenólicos e percentagem de inibição como ilustrado na Figura 25.



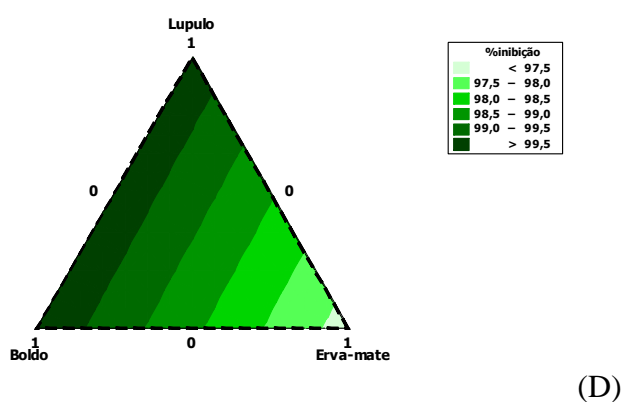
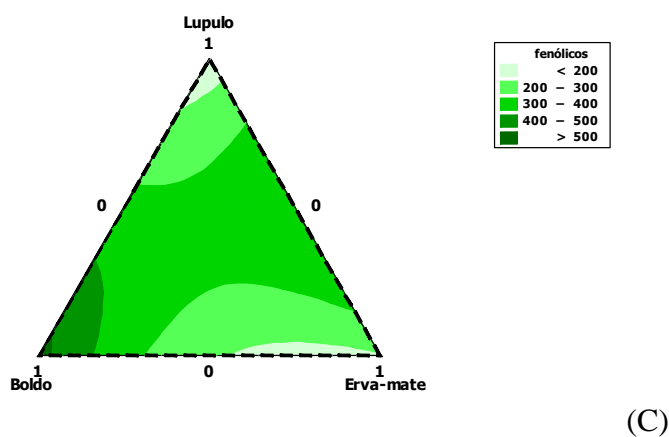


Figura 25. Gráficos de contorno para o planejamento de misturas de extratos de lúpulo, boldo e erva-mate considerando as respostas de (A) pH, (B) acidez, (C) concentração de fenólicos (mg/L) e (D) percentagem de inibição (%).

O gráfico referente ao parâmetro pH indica que a mistura ótima, isto é, mistura que atinja valores próximos aos do lúpulo, envolve uma maior proporção de boldo ou de lúpulo em relação à erva-mate (aproximadamente 95% boldo ou lúpulo e 5% erva-mate). O gráfico referente ao conteúdo de fenólicos indica uma proporção similar (aproximadamente 95% e 5%). Devido ao modelo linear adequado à resposta de % de inibição, a mistura ideal indica maior proporção de boldo e lúpulo em relação à erva-mate (aproximadamente 90% boldo ou lúpulo e 10 % erva-mate).

Lembrando que avaliando os parâmetros de forma individualizada, a proporção das ervas varia. Para otimizar todos os parâmetros simultaneamente e definir qual a proporção de extratos das ervas amargas mais apropriada na fabricação de cerveja *Pilsen*, foi aplicada a função de desejabilidade. Para essa otimização foi considerada a função global de desejabilidade que permitisse maximizar a % de inibição e a concentração de fenólicos e

minimizar o pH e a acidez. Como melhor proporção de extratos de ervas amargas foi obtida a relação de 0,66 de lúpulo, 0,32 de boldo e 0,02 de erva mate. Como respostas previstas pela função foram obtidas uma porcentagem de inibição (%) de 99,9%, concentração de fenólicos de 269,7 mg/L, pH = 5,9 e acidez = 7,9 mEq/L. Como função de desejabilidade global foi obtido um valor de D = 0,89 muito próximo de 1,0, indicando um bom ajuste das respostas previstas as respostas experimentais (porcentagem de inibição (%) = 98,95, concentração de fenólicos = 243,3 mg/L, pH = 5,9 e acidez mEq/L = 7,4).

Portanto, aplicando a função de desejabilidade e avaliando simultaneamente as respostas foi determinado a proporção ótima de lúpulo, boldo e erva-mate à ser utilizado no processo de fabricação de cerveja. A Tabela 12 elucida as proporções resultantes e suas respectivas nomeações.

Tabela 12. Proporções provenientes do planejamento de misturas e suas respectivas nomeações.

Cerveja/Amostra	Proporção
2	66% de lúpulo, 32% de boldo e 2% de erva-mate

Em adição às três cervejas elaboradas com base no planejamento de misturas simplex centroide, foi fabricada uma bebida sem adição de lúpulo. Suas proporções foram determinadas utilizando conhecimento técnico sobre o assunto. A proporção da bebida sem lúpulo está disponível na Tabela 13.

Tabela 13. Proporções provenientes da bebida sem lúpulo

Cerveja/Amostra	Proporção
4	37% de boldo, 37% de café verde, 16% de losna e 10% de erva-mate

5.3 Análise sensorial

5.3.1 Caracterização dos provadores

A análise sensorial foi realizada por 61 julgadores não treinados, de ambos os sexos e de ampla faixa etária. Participaram da pesquisa 37 homens e 24 mulheres, entre 18 e 55 anos. A Figura 26 ilustra a distribuição etária dos grupos.

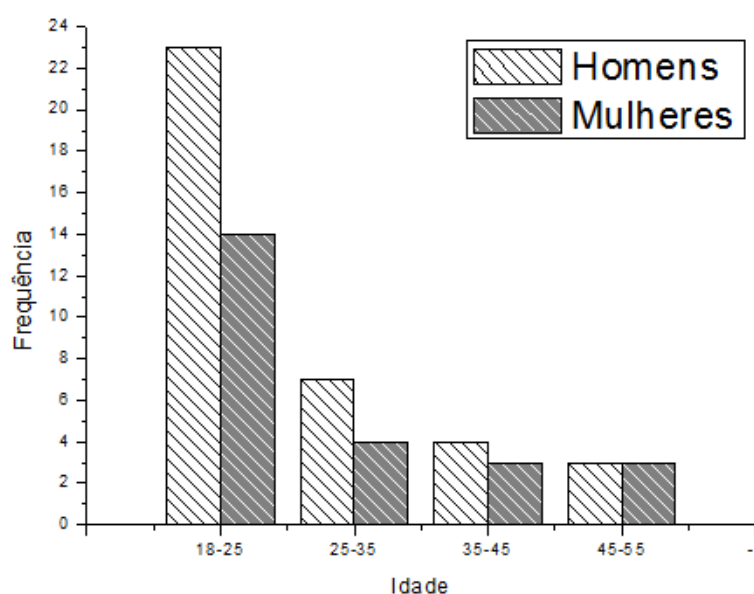


Figura 26. Distribuição dos provadores por faixa etária e sexo.

Observa-se que a faixa etária de 18 a 25 anos, considerando homens e mulheres, representa mais de 60% do universo de provadores. A população dividida entre homens e mulheres representa, entre os provadores, 60,6% e 39,4% respectivamente. Salienta-se que o teste foi realizado com maiores de 18 anos devido a lei vigente no país, a qual proíbi consumo e venda de bebidas alcóolicas à menores de idade, ou seja, os quais não atingiram a maioridade civil.

O hormônio responsável pela sensação de felicidade na mulher é a serotonina, enquanto no homem é a dopamina. Se tratando de consumo de alimentos, esta é a razão pela qual existem diferenças entre o paladar masculino e feminino. As mulheres naturalmente buscam alimentos de sabor adocicado, pois a ingestão deste tipo de comida aumenta os níveis de serotonina. Já os homens geralmente buscam alimentos de sabor amargo, pois estes aumentam seus níveis de

dopamina. Quando se trata de análise sensorial de cerveja, bebida predominantemente amarga, objetiva-se um número maior de provadores homens devido a distinção hormonal e a preferência natural (PACIEVITCH, 2014).

5.3.2 Aceitação global

Por meio do teste de preferência foi averiguado a aceitação global das amostras de cervejas preparadas com adição de ervas amargas regionais. A Tabela 14 apresenta as médias da aceitação global, desvio padrão e o resposta do teste Tukey ($p < 0,05$). Todas as amostras estudadas apresentaram valores acima do valor 5, referente ao conceito indiferente (nem gostei/nem desgostei).

Tabela 14. Resultados da aceitação global das bebidas elaboradas

Amostra	Mistura das ervas	Aceitação Global
1	45% lúpulo, 45% losna e 10% café verde	7,57 ± 0,74 ^a
2	65% lúpulo, 33% boldo e 2% erva-mate	6,70 ± 0,65 ^b
3	63% lúpulo e 37% losna	6,96, ± 0,91 ^{ab}
4	37% boldo, 37% café verde, 16% losna e 10% erva-mate	6,27 ± 0,86 ^b

NOTA: Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=61). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$).

A Amostra 1 se diferenciou significativamente ($p < 0,05$) das Amostras 2 e 4 pelo teste Tukey, mas não da Amostra 3. Isso indica que possivelmente a mistura de losna e lúpulo agradou ao paladar dos julgadores. Ainda, a Amostra 1, cerveja produzida uma proporção lúpulo/losna/café verde, obteve a melhor média de aceitação global.

A inclusão de ingredientes diferenciados é uma prática cada vez mais comum na produção de cervejas especiais. Leskosek *et al.* (2010) estudaram a possibilidade de inserção de ervas amargas no processo cervejeiro. Nesse contexto, os pesquisadores produziram três cervejas diferentes, uma delas com adição de tomilho (*Thymus vulgaris*), outra com erva-cidreira (*Melissa officinalis*) e outra com cogumelo asiático (*Ganoderma lucidum*). A análise sensorial das bebidas indicou que apesar de apresentar sabor e aroma incomuns, a cerveja com

cogumelo asiático obteve a melhor aceitação global. Já a bebida com erva-cidreira e com tomilho não obtiveram boa aceitação (LESKOŠEK-ČUKALOVIĆ e DESPOTOVIĆ, 2010).

As Amostras 2, 3 e 4 não apresentaram diferença estatística entre si. Isso corrobora para o fato de que a adição de lúpulo ao processo cervejeiro (Amostras 2 e 3) ou sua ausência (Amostra 4) não influencia diretamente na aceitação global do produto. Já que a amostra sem lúpulo obteve resultados similares às outras neste teste de preferência. Atualmente no mercado mundial não existem um grande número de cervejarias que produzem a bebida sem lúpulo. No Brasil a Cervejaria Nacional é a única que produz fermentados sem lúpulo. O lúpulo é substituído por uma mistura de ervas, raízes e flores (MEGA, NEVES e ANDRADE, 2011). O resultado da análise da aceitação global, ilustrado na Tabela 14, indica que existe a possibilidade de ausentar o lúpulo do processo, e, também propõe que o consumidor não percebe diferença significativa entre bebidas com ou sem lúpulo, desde que existam ervas amargas presentes.

Araújo (2003) estudou o perfil sensorial e a composição físico-química de dois tipos de cerveja provenientes do mercado brasileiro. O teste de aceitação com julgadores treinados sugeriu que não houve diferença significativa nas três cervejas (tipo *Pilsen*) avaliadas no trabalho (ARAÚJO; SILVA; MINIM, 2003).

Santos (2011) avaliou a utilização de arroz preto no processo de fabricação de cerveja. Os resultados mostram que a bebida com adição de arroz preto teve aceitação global entre “gostei pouco” e “gostei regularmente”, apresentando valores de $6,29 \pm 1,79$ (SANTOS, 2011). Os valores obtidos pelo referido trabalho foram semelhantes ou em algumas vezes inferiores aos obtidos neste trabalho.

Foram também construídos histogramas de preferência que certificam que as médias obtidas para o teste se aproximam de uma distribuição normal. A Figura 27 ilustra os histogramas.

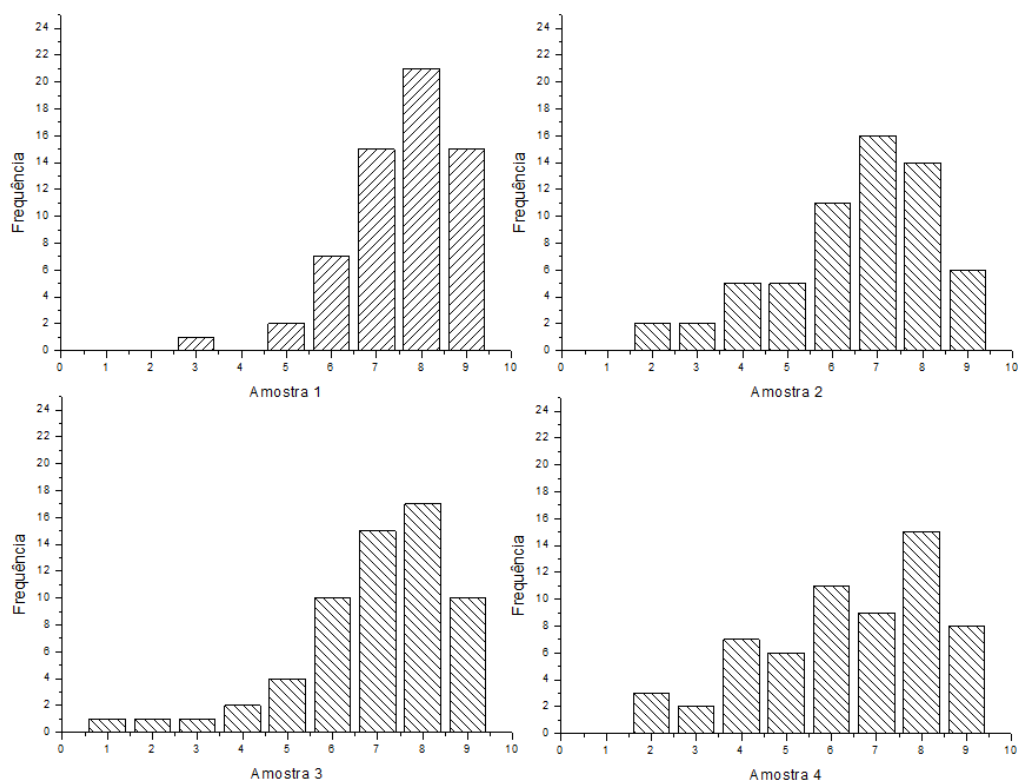


Figura 27. Histogramas das médias da análise sensorial de preferência das cervejas.

NOTA: O eixo X refere-se à nota de aceitação global, onde a menor valor (nota = 1) corresponde à “desgostei extremamente” e o maior valor (nota = 9) corresponde à “gostei extremamente”. Já o eixo Y refere-se à frequência de incidência da respectiva resposta.

5.3.3 Perfil de atributo

Os atributos avaliados (aparência, aroma, sabor, amargor e cor) e as suas respectivas médias estão descritos na Tabela 15. Os resultados são apresentados na forma de média e desvio padrão. Foi realizada ANOVA por meio do teste Tukey de comparação de médias ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos referentes aos atributos de aparência e cor não apresentaram diferença significativa entre si; indicando que o consumidor não distingue visualmente cervejas com ou sem adição de lúpulo, ou seja, a variação de cor é sutil e não perceptível. Soares e colaboradores (2015) produziram cervejas artesanais contendo bagaço de uva em sua composição. A cor do produto final foi analisada por meio de técnicas colorimétricas. Os resultados obtidos não apresentaram valores significativamente diferentes entre as cervejas produzidas durante o estudo. Soares (2015) apesar de utilizar uma metodologia distinta para avaliar a intensidade da coloração, obteve resultados similares ao presente trabalho. Isto é, técnicas colorimétricas e sensoriais podem ser utilizadas para estudos desse teor.

Tabela 15. Resultados do teste de Perfil de atributo das bebidas elaboradas

Amostra	Aparência	Aroma	Sabor	Amargor	Cor
1	7,65 ± 1,08 ^a	7,50 ± 1,37 ^a	7,34 ± 0,81 ^a	7,14 ± 1,56 ^a	7,51 ± 1,27 ^a
2	7,52 ± 1,22 ^a	6,50 ± 0,77 ^b	6,59 ± 1,65 _{ab}	6,40 ± 1,85 ^a	7,52 ± 1,08 ^a
3	7,77 ± 1,19 ^a	6,91 ± 1,20 _{ab}	6,98 ± 1,37 _{ab}	6,96 ± 1,81 ^a	7,77 ± 0,99 ^a
4	7,21 ± 1,48 ^a	6,36 ± 0,81 ^b	6,26 ± 0,94 ^b	6,37 ± 1,77 ^a	7,21 ± 1,15 ^a

NOTA: Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=61). Letras iguais na coluna não diferem significativamente (p<0,05).

Os resultados obtidos provenientes do atributo do aroma apresentam diferença significativa entre si. A Amostra 1 difere-se da 2 e da 4, sugerindo que a primeira bebida apresentou maiores índices de aceitação nesse quesito. Se comparada as Amostras 1 e a 3, estas não apresentam diferença significativa. Em estudo realizado por Leskosek (2010) ficou evidenciado que homens e mulheres discordam sobre a preferência neste atributo. Mulheres preferem cervejas mais aromáticas e refrescantes. Já os homens preferem-nas mais amargas e encorpadas (LESKOŠEK-ČUKALOVIĆ; DESPOTOVIĆ; V, 2010).

Segundo Venturini Filho (2010) um dos atributos mais importantes para avaliação sensorial é o sabor. Pode-se verificar que as Amostras 1 e 4 se diferenciam significativamente entre si. Porém as demais não. Neste quesito as amostras 1, 2 e 3 apresentaram os maiores valores atribuídos pelos julgadores. Já a Amostra 4, referente à cerveja sem lúpulo, obteve avaliações inferiores.

Observando os valores médios referentes ao amargor é possível perceber que em nenhuma das amostras houve diferença significativa. Este resultado sugere que os julgadores que participaram da análise sensorial foram incapazes de diferir cervejas com ou sem adição de lúpulo. Este fato evidencia a possibilidade de fabricação de cervejas com quantidades de lúpulo reduzido ou até mesmo sem adição deste. Carvalho (2009) fabricou cerveja com adição de banana como adjunto e aromatizante. Em seu trabalho, o teste de aceitação global não sugeriu diferenças significativas entre a cerveja de banana e a comercial. O autor referido também realizou um estudo econômico preliminar para verificar o custo de produção do processo. Nesse contexto, o custo calculado foi de 204,76% superior a de uma cerveja comercial (CARVALHO, 2009a). Tendo em vista o aspecto econômico, sabe-se que o lúpulo é uma das matérias-primas

do processo mais dispendiosas. Portanto fabricando uma cerveja sem esta matéria-prima, é possível reduzir significativamente o processo. A presente análise sensorial auxilia na comprovação de que é possível diminuir o custo geral e mesmo assim fabricar um produto de qualidade, onde o consumidor obtenha satisfação e também e não perceba a ausência do lúpulo.

Silva e Faria avaliaram a intensidade de amargor de diferentes cervejas de marcas comerciais. O tipo de cerveja que obteve o maior índice de amargor foi a *Indian Pale Ale*. As cervejas do tipo *Lager* apresentaram os menores valores de índice de amargor (SILVA; FARIA, 2008).

5.3.4 Perfil de atitude

Aos julgadores foi perguntado sobre a possibilidade de compra de alguma das quatro cervejas produzidas. Assim, com base nas respostas geradas por cada provador, obteve-se a Figura 28.

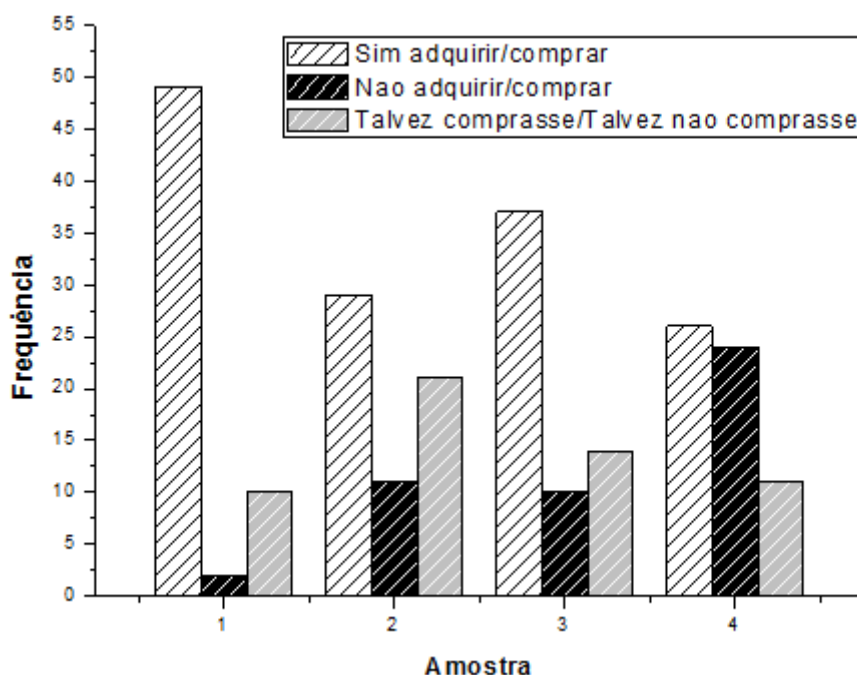


Figura 28. Histograma de frequência da possível aquisição das cervejas preparadas (n=61).
NOTA: O eixo X refere-se ao número da amostra e o eixo Y refere-se à frequência de incidência da respectiva resposta.

A escala utilizada na análise apresentava cinco níveis, onde os dois níveis superiores (correspondendo às notas 4 e 5) eram referentes à resposta “SIM”, ou seja, resposta favorável à aquisição do produto. Já os dois níveis inferiores (correspondendo às notas 1 e 2) eram referentes à resposta “NÃO”, ou seja, resposta desfavorável a aquisição do produto. O nível médio (nota 3) correspondeu à resposta inconclusiva, ou seja, o julgador tinha a possibilidade ou não de adquirir a bebida (talvez comprasse/talvez não comprasse). Observando a Figura 28 é possível visualizar que a maior intenção de compra foi referente à Amostra 1, já que mais de 45 julgadores responderam positivamente.

A Tabela 16 apresenta os resultados do perfil de atitude para a análise sensorial das bebidas.

Tabela 16. Intenção de compra proveniente do perfil de atitude.

Amostra	Perfil de atitude
1	4,21 ± 0,48 ^a
2	3,52 ± 0,61 ^{bc}
3	3,70 ± 0,54 ^{ab}
4	3,08 ± 0,57 ^c

NOTA: Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=61). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Examinando a Tabela 17 é possível concluir que a Amostra 1 apresentou diferença significativa se comparada às Amostras 2 e 4. Portanto nessa comparação, a cerveja com adição de lúpulo/losna/café verde apresentou os maiores índices de intenção de compra. Os dados permitem concluir que a aceitação das bebidas com adição de ervas apresentou valores satisfatórios, sendo que a amostra 1 obteve notas referentes às respostas “possivelmente compraria/certamente compraria”. Devido a não apresentar diferença estatística as Amostras 1 e 3 apresentaram elevados índices quanto a intenção de compra.

O mercado de cervejas artesanais, ou seja, cervejas com adições de ingredientes diferenciados, está crescendo exponencialmente. Nesse contexto, cervejarias artesanais ou micro cervejarias elaboram e disponibilizam para o mercado bebidas inovadoras e de alta qualidade. Vogel *et al.* (2015) elaborou cerveja artesanal com adição de mel e gengibre. A análise sensorial da bebida indicou que 70% dos provadores classificaram a cerveja como sendo

boa ou ótima. A intenção de compra do produto também apresentou elevados índices (Vogel *et al.* 2015).

O teste de intenção de compra também indicou a necessidade de aprimorar o processo de produção de cerveja sem lúpulo (Amostra 4), já que esta obteve os menores valores.

5.3.5 Perfil de preferência

Aos julgadores questionou-se também sobre a amostra preferida entre as quatro. Neste teste, com a finalidade de compreender a razão da escolha, foi solicitado à cada provador que elaborasse um comentário explicativo. A Figura 29 ilustra o histograma construído com as amostras preferidas e sua respectiva frequência.

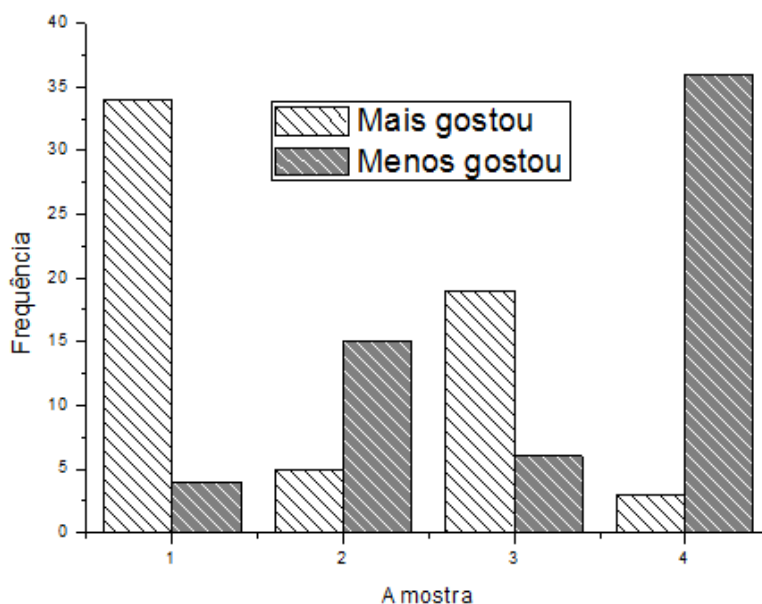


Figura 29. Histograma da relação entre a frequência das respostas e a amostra. NOTA: O eixo X refere-se ao número da amostra e o eixo Y refere-se à frequência de incidência da respectiva resposta.

Os dados apresentados na Figura 29 sugerem que a Amostra 1 foi a preferida entre os provadores, já que mais de 30 provadores elegeram esta como sendo a melhor bebida. Batista (2014) produziu cervejas com adição de pinhão como adjunto no processo. A análise sensorial das amostras indicou que julgadores não treinados não são capazes de discernir entre cervejas de pinhão com ou sem casca. Já o perfil de preferência concluiu que 55% dos provadores preferiram a cerveja com casca em relação à sem. Este índice viabilizou a produção desta bebida

com pinhão em escala piloto. O índice de preferência obtido pelo referido trabalho foi semelhante ao do presente trabalho (referente a Amostra 1), ou seja, existe a possibilidade de produção em escala piloto da cerveja com losna e café verde.

Os menores índices de preferência foram obtidos pela Amostra 4. Mais de 35 julgadores elencaram esta como sendo a bebida menos aceita. Sinergicamente o perfil de atitude e o perfil de preferência indicam que existe a necessidade de modificar a proporção de cada erva. O segundo menor índice de preferência foi obtido pela Amostra 2. Mais de 15 provadores a elencaram como sendo a bebida que menos gostou. As duas amostras citadas, que exibiram as menores avaliações, compartilham das mesmas matérias-primas (com exceção do lúpulo). Em consequência disso, percebe-se que bebidas preparadas com boldo e erva-mate, nas proporções estudadas, não obtiveram grande aceitação. Esta menor aceitação das amostras 2 e 4 ocorreu devido a proporção utilizada. Portanto, sugere-se que para aumentar os índices de aceitação estudados faz-se necessária a alteração da proporção, diminuindo a quantidade de boldo e/ou erva-mate.

Também por meio do teste Tukey, ilustrado nas Tabelas 14, 15 e 16, é possível notar que as amostras 2 e 4 não apresentaram diferença significativa entre si. Isso corrobora para que ambas tenham obtido os menores índices sem distinção.

A elaboração de um novo tipo de cerveja é um processo que depende de inúmeras variáveis. Portanto baixos índices de aceitação podem ser utilizados para nortear pesquisas futuras. Schork (2015) elaborou cervejas artesanais sem glúten e comparou sensorialmente com bebidas da mesma classe provenientes do mercado brasileiro. O índice de intenção de compra sugeriu que os provadores preferem a cerveja comercial à bebida preparada pelo autor citado, necessitando à bebida fabricada pelo autor mudanças em sua preparação (SCHORK, 2015).

A análise sensorial é uma ferramenta útil para verificar a possibilidade de produção em grande escala de determinado produto/alimento. Carvalho *et al.* (2014) analisou sensorialmente o perfil de compra do consumidor de cerveja do tipo *Pilsen*. Durante a pesquisa observou-se que em alguns casos os consumidores não se mostraram conscientes dos motivos que realmente determinaram a sua preferência (CARVALHO *et al.*, 2014). Já no campo de produção de cervejas artesanais, essa indecisão pode auxiliar o processo de aquisição da bebida. Já que muitas vezes se percebe que consumidor adquire a cerveja com “erva amarga” apenas por que já a utilizou na medicina tradicional.

Em conjunto, foi avaliado também o perfil de preferência por sexo. Foram construídos histogramas que relacionam a amostra e sua respectiva frequência de resposta, ou seja, quantos

homens ou mulheres preferiram ou não preferiram uma das quatro bebidas analisadas. A Figura 30 ilustra os histogramas.

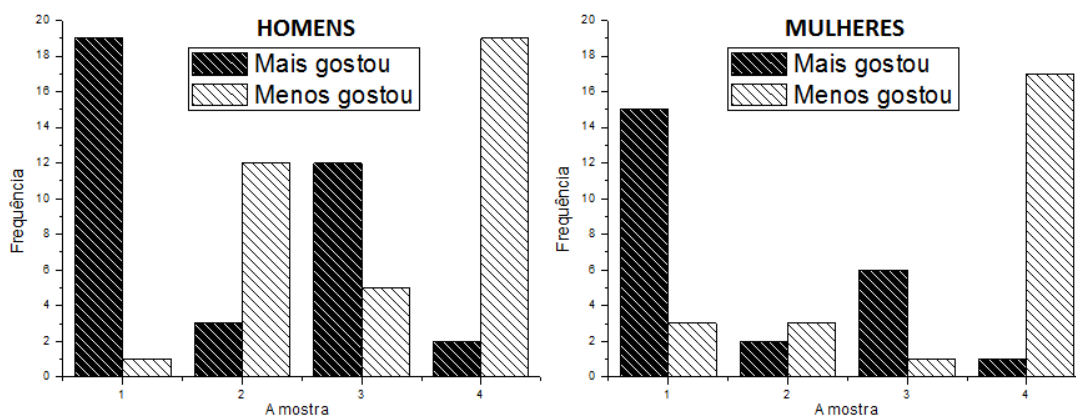


Figura 30. Histograma do perfil de preferência das cervejas por sexo. NOTA: O eixo ‘Y’ refere-se à incidência da resposta “mais gostou” ou “menos gostou”. O eixo ‘X’ refere-se ao número da respectiva amostra.

Avaliando o perfil de preferência dos homens e o das mulheres notou-se que ambos os sexos elegeram as mesmas amostras como sendo suas preferidas. As amostras 1 e 3 obtiveram os maiores índices de preferência indicados pelos histogramas da Figura 30. Enquanto as amostras 2 e 4 apresentaram os menores índices. Portanto, apesar da diferença natural entre o paladar feminino e o masculino, observou-se que esta distinção não ocorreu de forma significativa.

Leskosek *et al.* (2010) avaliaram as propriedades sensoriais de cervejas produzidas com tomilho (*Thymus vulgaris*), erva-cidreira (*Melissa officinalis*) e com cogumelo asiático (*Ganoderma lucidum*). Em sua análise, provadores do gênero masculino e feminino não apresentaram diferença significativa em relação à avaliação do corpo e aparência das bebidas estudadas (LESKOŠEK-ČUKALOVIĆ; DESPOTOVIĆ; V, 2010). As conclusões obtidas pelos referidos autores foram próximas as obtidas pelo presente trabalho.

Aos julgadores foi solicitado que redigissem um comentário com a finalidade de explicar a sua preferência. Alguns comentários relevantes referentes às respostas positivas ou negativas referentes a Amostra 1 estão disponíveis na Tabela 17.

Tabela 17. Comentários positivos e negativos referentes a Amostra 1.

Amostra	Comentários	
	“Menos gostou”	“Mais gostou”
1	“Muito amarga” ^F	“Equilíbrio entre amargor, aroma e sabor” ^F “Cerveja diferente das que tem no mercado” ^M “Sabor marcante no início e suave no final” ^M

NOTA: Os comentários foram copiados na íntegra para que seu conteúdo não tivesse sido alterado. O índice ^F significa que o comentário foi escrito por um provador do sexo feminino. O índice ^M significa que o comentário foi escrito por um provador do sexo masculino.

Os resultados da análise sensorial indicaram que a cerveja/amostra 1 além de ter obtido os melhores índices de compra, aceitação e preferência, recebeu comentários favoráveis. Uma provadora do sexo feminino evidenciou o equilíbrio entre amargor, aroma e sabor. Este equilíbrio é o que todo pesquisador da área de bebidas/alimentos visa alcançar. Segundo Sebrae (2014) o produtor de cerveja artesanal deve focar nas características sensoriais do produto e sua aceitação pelos consumidores. Porém outros aspectos devem ser levados em consideração, tais como, ações de marketing, contratos com possíveis locais de venda (restaurantes, hotéis) e montagem de quiosques em locais estratégicos (SEBRAE, 2014). Portanto a confecção de cervejas artesanais com adições de novas matérias-primas é um campo a ser estudado com cautela, considerando vários aspectos além da elaboração da bebida. Outro julgador comentou que a Amostra 1 se difere das cervejas presentes no mercado. A fabricação de um produto diferenciado e de qualidade também é um dos principais objetivos de pesquisas no campo de bebidas alcoólicas.

Alguns comentários relevantes referentes às respostas positivas ou negativas referentes as Amostras 2 e 4 estão disponíveis na Tabela 18.

Tabela 18. Comentários positivos e negativos referentes as Amostras 2 e 4.

Amostra	Comentários	
	“Menos gostou”	“Mais gostou”
2	“Amargor muito intenso no final” ^F “Achei a mais fraca” ^M	Não houveram comentários
4	“Cerveja muito amarga” ^F “Intenso amargor” ^F “Parece ter baixo teor alcoólico” ^M	Não houveram comentários

NOTA: Os comentários foram copiados na íntegra para que seu conteúdo não tivesse sido alterado. O índice ^F significa que o comentário foi escrito por um provador do sexo feminino. O índice ^M significa que o comentário foi escrito por um provador do sexo masculino.

Das quatro bebidas preparadas com adição de ervas amargas regionais, as Amostras 2 e 4 apresentaram, em geral, os menores índices de compra, aceitação e preferência. Avaliando os comentários ilustrados na Tabela 18, sugere-se que a razão pela qual o universo de provadores “gostou menos” das amostras é o amargor. O amargor foi citado nos comentários como sendo uma característica desfavorável.

O lúpulo, além de ser o principal responsável pelo amargor característico da cerveja, é também a matéria-prima mais dispendiosa do processo. Nesse contexto, os comentários negativos (em decorrência do amargor nas Amostras 2 e 4) apenas corroboram com o fato de que existe a possibilidade de inserção de ervas amargas no processo cervejeiro. Porém, devido a reduzida intenção de compra, aceitação e preferência faz-se necessário a alteração da proporção de ervas utilizadas.

Os comentários negativos, referentes ao amargor sugerem que o paladar feminino é mais intolerante a bebidas de alto amargor. Como já mencionado, isso se deve a distinção hormonal existente entre homens e mulheres (PACIEVITCH, 2014).

Na Tabela 19 estão disponíveis os comentários positivos e negativos referentes a Amostra 3.

Tabela 19. Comentários positivos e negativos referentes a Amostra 3.

Amostra	Comentários	
	“Menos gostou”	“Mais gostou”
3	“Falta de aroma” ^M “Cor e sabor fraco” ^M	“Achei a mais forte” ^M

NOTA: Os comentários foram copiados na íntegra para que seu conteúdo não tivesse sido alterado. O índice ^F significa que o comentário foi escrito por um provador do sexo feminino. O índice ^M significa que o comentário foi escrito por um provador do sexo masculino.

Os principais relatos positivos evidenciam a diferença entre o paladar feminino e o masculino. Neste caso o provador elegeu a amostra em questão como sendo sua preferida devido a bebida ser encorpada. Já os relatos negativos evidenciam a falta de aroma e o fraco sabor/cor.

5.4 Parâmetros físico-químicos das cervejas elaboradas

Os parâmetros físico-químicos avaliados nas cervejas elaboradas com a adição de ervas amargas estão disponíveis na Tabela 20.

Tabela 20. Parâmetros físico-químicos avaliados nas cervejas elaboradas.

Amostra	Parâmetro avaliado	
	pH	Amargor (BU)
1	5,48 ± 0,15 ^a	12,5 ± 0,42 ^a
2	5,57 ± 0,10 ^a	12,9 ± 0,39 ^a
3	5,64 ± 0,17 ^a	12,6 ± 0,35 ^a
4	5,45 ± 0,14 ^a	4,1 ± 0,51 ^b

NOTA: Os resultados são apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p < 0,05$).

A adição de ervas amargas no processo cervejeiro não influencia diretamente o valor do pH do produto final, já que não foram observadas mudanças significativas ($p < 0,05$). Este resultado enfatiza o caráter ácido da bebida. Esse caráter se deve à presença de ácidos orgânicos provenientes do lúpulo ou das matérias-primas estudadas.

Avaliando o parâmetro de amargor, nota-se que as cervejas produzidas com lúpulo (amostra 1, 2 e 3) apresentaram valores muito próximos de unidades de amargor. Cervejas do tipo *Pilsen* devem apresentar índice de amargor entre 12 e 15 unidades de amargor. Sendo assim a bebida elaborada ausente de lúpulo, apenas com ervas, indicou que o procedimento experimental de determinação das unidades de amargor é padronizado apenas para bebidas com lúpulo. Cabe salientar que a bebida fabricada sem lúpulo respondeu ao procedimento apresentando um índice reduzido.

Silva e Faria (2008) avaliaram o índice de amargor proveniente de cervejas de marcas comerciais. Baseado nos resultados obtidos pelo autor referido, observou-se que as cervejas do tipo *Pilsen* avaliadas no trabalho apresentaram valores similares aos obtidos pelo presente estudo, com exceção da amostra 4. O autor referido também quantificou o teor de alfa-ácidos nas bebidas. O índice evidenciou que a relação entre a quantidade de alfa ácidos e a determinação de amargor não foi proporcional, isto é, uma maior quantidade de alfa ácidos não indica necessariamente um maior índice de amargor.

Dessa forma, o procedimento de determinação de amargor padronizado para bebidas com lúpulo se mostra ineficiente para quantificar o amargor presente em bebidas ausentes de lúpulo. Em vista disso, surge a necessidade de elaboração de procedimento experimental que mensure a quantidade de amargor em bebidas ausentes de lúpulo.

A Figura 31 ilustra as bebidas elaboradas no presente trabalho.



Figura 31. Cervejas elaboradas a partir de ervas amargas (1) lúpulo/losna/café verde, (2) lúpulo/boldo/erva-mate, (3) lúpulo/losna e (4) boldo/café verde/losna/erva-mate.

6. CONCLUSÃO

O estudo dos estratos indicou que os parâmetros físico-químicos pH, acidez total e titulável são influenciados pelo tempo de extração, isto é, um maior tempo de extração sugere a redução do pH e por conseguinte o aumento da acidez.

A aplicação de planejamentos fatoriais de misturas simplex centroide se mostrou como uma ferramenta útil na otimização da dosagem das ervas no processo de fabricação de cerveja. Isso se deve a relação entre os resultados obtidos provenientes do planejamento e a análise sensorial. As cervejas que obtiveram melhores índices sensoriais foram as provenientes da análise estatística da dosagem, isto é, do planejamento de misturas simplex centroide.

A análise sensorial mostrou que, em geral, as dosagens provenientes dos planejamentos simplex centroide obtiveram maiores índices de compra, aceitação e preferência. Comparativamente, a cerveja produzida utilizando uma proporção de 45% de lúpulo, 45% de losna e 10% de café verde obteve os maiores índices avaliados sensorialmente. Já a bebida ausente de lúpulo, com as proporções de 35% de boldo, 35% café verde, 17% losna e 13% erva-mate, obteve os menores índices sensoriais

Os parâmetros físico-químicos das cervejas indicaram que o procedimento experimental de determinação do amargor é padronizado apenas para bebidas que contêm lúpulo. Quando amostras ausentes de lúpulo são submetidas ao procedimento, a resposta se mostra inadequada. Já o valor do pH das cervejas não varia significativamente em decorrência da introdução das ervas no processo cervejeiro.

A baixa aceitabilidade na análise sensorial da bebida preparada apenas com ervas amargas sugere que necessitam mais estudos com a finalidade de determinar a proporção ótima relativa das ervas, visto que a redução no custo de produção é notável.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; DUARTE, S. M. S.; LIMA, R. A.; ALVARENGA, J. D.; FERREIRA, B. E. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*coffea arabica* L.). v. 34, n. 2, p 414-420, 2010.

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G. F. A.; DUARTE, S. M. S.; LIMA, R. A.; ALVARENGA, J. D.; FERREIRA, B. E. Atividade antioxidante in vitro e in vivo de café bebida mole. v. v. 47, n. 1, p. 127-133, 2012.

ALMEIDA, N. E. C. Reatividade de iso- α -ácidos e seus derivados hidrogenados frente ao radical 1-hidroxi-etila: implicações na perda de qualidade sensorial da cerveja. 2011. 115 f. Dissertação (Mestrado em ciências) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. v. 23, n. 2, p. 121–128, 2003.

ARIÑO, A. Essential Oil of *Artemisia absinthium* L. from the Spanish Pyrenees. *Journal of Essential Oil Research*, v. 11, n. 2, p. 182–184, 1999.

BAMFORTH C. W. Nutritional aspects of beer – a review. v. 22, n. 5, p. 227-237. 2002.

BARBOZA, L. M. V.; FREITAS, R. J. S.; WASZCZYNSKYJ, N. Desenvolvimento de produtos e análise sensorial. *Brasil Alimentos*, v. 6, n. 18, p. 34-35, 2003.

BATISTA, R. DE A. Produção e Avaliação Sensorial de Cerveja com Pinhão (*Araucaria angustifolia*). 2014. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

BOAVENTURA, B. C. B. Avaliação do efeito antioxidante da erva mate (*Ilex paraguariensis*) em indivíduos com dislipidemia. 2010. 106 f. Dissertação (Mestrado em

Nutrição) – Centro de ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BORTOLI, D. S.; SANTOS, F.; STOCCO, N. M. Leveduras e produção de cervejas. v. 4, n. 5 p. 45–58, 2013.

CARVALHO, G. B. M. DE. Obtenção de Cerveja usando Banana como Adjunto e Aromatizante. 2009. 163 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

CARVALHO, G.; BENTO, C.; SILVA, J. Elementos Biotecnológicos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 3a parte–A Maturação. v. 27, n. 4, p. 69–74, 2007.

CARVALHO, J. NASCIMENTO, R. G.; NAZAR, S.; GONÇALVEZ, S. R. Análise do perfil de compra do consumidor de cerveja *Pilsen* branca. v. 3, n. 2, p. 1–25, 2014.

CARVALHO, M. DE. Elementos Biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 2º parte – A Fermentação. v. 3, n. 5, p. 2–11, 2007.

DI CASTELNUOVO A, COSTANZO S, BAGNARDI V. Alcohol dosing and total mortality in men and women: An updated meta-analysis of 34 prospective studies. v. 166, n. 4, p. 2437-2445. 2006.

FERREIRA, V. L. P; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. M. Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos. Campinas: SBCTA, Manual: Série Qualidade. 2000. 127 p.

FERREIRA, V. L. P; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. M. Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos. Campinas: SBCTA, Manual: Série Qualidade. 2000. 127 p.

FILHO, W. G. V. Bebidas alcoólicas, ciência e tecnologia. 1º. ed. São Paulo: Blucher, 2010.

FIX, George. Principles of Brewing Science. 2008. Disponível em: <<https://rotenfussbier.wordpress.com/2012/12/12/lupulo-amargor/>>. Acesso em: 12 jun. 2016.

GROUP, T. B. Beer Production Market Leaders and their Challengers in the Top 40 Countries in 2012 More about hops. 2012.

HENRIQUE, P.; FARIA, F. C. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. v. 2008, n. 002676, p. 902–906, 2008.

HEITICH, A. Plantas que curam: Boldo, São Paulo. 2013. Disponível em: <<http://www.plantasquecuram.com.br/ervas/boldo-do-chile.html#.V9F5qoYrLIU>>. Acesso em: 12 jun. 2016.

HOUGH, J. Biotechnology of malting and brewing. 2010.

HOANG F. A.; ROWEN R. Artemisia the new cancer herb. 2014. Disponível em: <<http://blogs.naturalnews.com/artemisia-the-new-cancer-herb/>>. Acesso em: 21 jun. 2014.

LALLEMAND, D. Diamond. 2011. 2 p.

LESKOŠEK-ČUKALOVIĆ, I.; DESPOTOVIĆ, S.; V. New Type of Beer–Beer with Improved Functionality and Defined Pharmacodynamic Properties. v. 48, n. 3, p. 384–391, 2010.

MARCONDES, L. Fervura e Tratamento do Mosto. Sebrae: 2013. 24 slides.

MALAVOLTA, R. H. E. Mineral composition of a comercial product from mate-herb. Ciência Rural, v. 31, n. 5, p. 781-785, 2001.

MEGA, J.; NEVES, E.; ANDRADE, C. A produção de cerveja no Brasil. v. 1, n. 1, p. 34–42, 2011.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Sensory evaluation techniques. Boca Raton, CRC Press, 394 p. 1991.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, S. B. E.; COSTA, O. S. M.; AGUIAR A. L. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. v. 19, n. 4, p. 315-320, 2009.

NEVES, L. C. M. Processo fermentativos. v. 3, n. 4, p. 5–40, 1993.

NEVES, L. C. M. Revisão bibliográfica: Processo fermentativos. p. 5–40, 1993.

ONAKPOYA, I.; TERRY, R.; ERNST E. 2011. The use of green coffee extract as a weight loss supplement: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *Gastroenterology Research and Practice*. v. 2011, n. 382852, p. 6.

PARK, K. J. *et al.* Conceitos de processo e equipamentos de secagem. Centro de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, p. 127, 2007.

PEDRÃO, M. R.; CORÓ, F. A. G. Análise sensorial e sua importância na pesquisa de alimentos. *Revista Unopar Científica - Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 1, n. 1, p. 85-89, 1999.

PEDROSO, G. L.; MENDES, R. H.; PERSCH K.; JAHN, M. P.; KUCHARSKI, L. C. Effect of aqueous extract of *Ilex paraguasiensis* on the metabolism of male rats. *Portal Hospital de Clínicas de Porto Alegre*, v. 30, n. 3, p. 241-246, 2010.

PHILPOTT, J.; TAYLOR, D. M.; WILLIAMS, D. R. Critical assessment of factors affecting the accuracy of the IoB Bitterness Method. *Journal of American Society of Brewing Chemists*. v. 55, n. 3, p. 103-106, 1997.

PIGGOT, J. R. Sensory Análisis of Foods. London: Elsevier, 1984, 389 p.

PINHEIRO, R. S.; CARPES, S. T. Caracterização fenólica, atividade antioxidante *in vitro* de artemísia (*artemisia annua l.*) e sálvia (*salvia officinalis*). v. 13, n. 3, p. 223-228, 2011.

RIMM E. B. “Alcohol and cardiovascular disease”.v. 2, n. 3, p. 529-535. 2000.

ROSSINI, K.; ANZANELLO, M. J.; FOGLIATTO, F. S. Seleção de atributos em avaliações sensoriais descritivas. v. 4, n. 8, p 29-41, 2012.

SALLES, André. Associação Brasileira da Indústria da Cerveja. São Paulo, 23 nov. 2015. Disponível em: <<http://www.cervbrasil.org.br/paginas/index.php?page=anuario-2015>>. Acesso em: 12 jun. 2016.

SANTOS, C. D. O. Avaliação do emprego do arroz preto (*Oriza sativa L.*) submetido a hidrólise enzimática como adjunto na fabricação de cerveja. 2011. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2011.

SANTOS, G. M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí. v. 58, n. 2, p. 187–192, 2008.

SANTOS, G. M. DOS *et al.* Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí. v. 58, n. 2, p. 187–192, 2008.

SÃO PAULO., ANVISA, A. N. D. V. S. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 24/07/78, p. 49 – 51, 1978.

SIDOOSKI, T. Processo de produção de cerveja puro malte do tipo pale ale. 2011. 183 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Escola de engenharia Química). Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2011.

SHIMODA, H.; SEKI, E.; AITANI, M. 2006. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. v. 6, n. 9, p. 114-119.

TUAN, Y. Topofilia: um estudo da percepção, atitudes e valores do meio ambiente. São Paulo: Difel, 1980, 75 p.

VANDERHAEGEN, B. *et al.* The chemistry of beer aging - A critical review. *Food Chemistry*, v. 95, n. 3, p. 357–381, 2006.

ZANOLI, P.; ZAVATTI, M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. v. 116, n. 3, p. 383–396, 2008.

ZIELINSKI, A. A. F. HAMINIUK, C. W. I. ALBERTI, A. NOGUEIRA, A. DEMIATE, I. M. GRANATO, D. A comparative study of phenolic compounds and the *in vitro* antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. *Food Research International* v. 60, n. 3, p. 246-254, jun. 2014.

ZENEON, O.; PASCUET, S. N.; TIGLEA, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020 p.

WALKER, Caroline. The Effects of Moderate Beer Consumption. 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/Pimp%C3%A3o/Downloads/The%20Effects%20of%20Moderate%20Beer%20Consumption.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2016.

ANEXO A

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE – UNICENTRO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PROPESP COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COMEP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Colaborador (a),

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa de uma BEBIDAS FERMENTO-DESTILADAS A BASE DE ERVAS REGIONAIS, sob a responsabilidade da Profª KATIELLE ROSALVA VONCIK CÓRDOVA, 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: 1.613.547

Data da relatoria: 12/07/16

1. PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA: Essa pesquisa tem por objetivo avaliar o potencial de aproveitamento e utilização ervas regionais para a elaboração de uma bebida fermento-destilada visando avaliar a sua aceitação e intenção de compra. Ao participar desta pesquisa será necessário que 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 para pessoas portadoras de diabetes, 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 deverá imediatamente relatar 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 não deverá e não poderá fazer uso do **volante devido ao álcool que com a Lei Seca**, quem é flagrado dirigindo após ter ingerido mesmo que seja 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

quaisquer outras funções que apresentem risco a sua vida.

3. BENEFÍCIOS: Os benefícios esperados com esse estudo são no sentido de apresentar aos consumidores um novo tipo de produto, pois comercialmente não há nenhum produto a base de seu pseudofruto. Para consumidores de pequenas e moderas quantidades de álcool apresentam níveis de HDL (chamado de o bom colesterol) mais altos do que os não consumidores, este remove o colesterol da corrente sanguínea prevenindo o espessamento das artérias e assim auxiliando na prevenção de doenças cardiovasculares. Auxiliar na prevenção de cálculos renais, pois estimula o fluxo urinário, mas não impede totalmente a formação e também não ajuda no tratamento de quem já está com os cálculos formados. O risco de desenvolver diabetes do tipo dois a que podemos desenvolver na vida adulta diminui, pois auxilia no aumento dos níveis do hormônio que melhora a sensibilidade à insulina, em outras palavras, se torna mais fácil para o seu corpo processar a glicose e usar ela como energia, porém se o consumo do álcool não for moderado aumentam-se os níveis de glicose no sangue, aumentando o risco de diabetes. Possui a propriedade antioxidante da que provém dos flavonóides onde este composto químico possui propriedades antiinflamatórias e antioxidantes que vem do lúpulo e da casca da cevada malteada, produzindo o mesmo efeito benéfico de redução de radicais livres atribuídos a ele quando inserido na alimentação ou através da ingestão de vinho.

4. FORMAS DE ASSISTÊNCIA: No caso da ocorrência de alguma reação alérgica ou outra reação que atente contra sua saúde, você deverá imediatamente relatar o ocorrido à pesquisadora. A pesquisadora irá encaminhá-lo para atendimento médico na unidade de saúde mais próxima. Assim você será encaminhado (a) por KATIELLE ROSALVA VONCIK CÓRDOVA, telefone (42) 9964-3811, para a unidade de saúde mais próxima, no caso do Campus CEDETEG, o Posto de Atendimento Municipal da Vila Carli.

5. 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.

6. 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: Katielle Rosalva Voncik Córdova Endereço: Simeão Varela de Sá 03 – Campus CEDETEG Telefone para contato: (42) 9964-3811 Horário de atendimento: 8h – 12h e das 13:30 – 17:30
--

Comitê de Ética em Pesquisa da UNICENTRO – COMEP Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, Campus CEDETEG Endereço: Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03 – Vila Carli CEP: 85040-080 – Guarapuava – PR Bloco de Departamentos da Área da Saúde Telefone: (42) 3629-8177
--

7. RESSARCIMENTO DAS DESPESAS: Caso o (a) Sr. (a) aceite participar da pesquisa, não

receberá nenhuma compensação financeira.

8. 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, e receberá uma cópia deste Termo.

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr.(a) _____, portador(a) da cédula de identidade nº _____, 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

Acadêmico

Assinatura do Pesquisador

ANEXO B

Nome: _____

Data: _____

Sexo (F/M): _____ Idade: _____

1. Por favor, avalie cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada uma nos atributos: Aparência, Aroma, Sabor, Textura e Cor.

- 9 – gostei muitíssimo
- 8 – gostei muito
- 7 – gostei moderadamente
- 6 – gostei ligeiramente
- 5 – nem gostei / nem desgostei
- 4 – desgostei ligeiramente
- 3 – desgostei moderadamente
- 2 – desgostei muito
- 1 – desgostei muitíssimo

Amostra	APARÊNCIA	AROMA	SABOR	AMARGOR	COR

2. Por favor, com relação a cada amostra, indique o número da lista abaixo em relação à ACEITAÇÃO GLOBAL do produto de um modo geral.

- | | | |
|---------|-------|--------------------------------|
| Amostra | Valor | |
| _____ | _____ | 9 – gostei muitíssimo |
| _____ | _____ | 8 – gostei muito |
| _____ | _____ | 7 – gostei moderadamente |
| _____ | _____ | 6 – gostei ligeiramente |
| _____ | _____ | 5 – nem gostei / nem desgostei |
| _____ | _____ | 4 – desgostei ligeiramente |
| _____ | _____ | 3 – desgostei moderadamente |
| _____ | _____ | 2 – desgostei muito |
| _____ | _____ | 1 – desgostei muitíssimo |

3. Por favor, com relação a cada amostra, indique qual seria o número correspondente a sua INTENÇÃO DE COMPRA.

- 5 - certamente compraria
- 4 - possivelmente compraria
- 3 - talvez comprasse/talvez não comprasse
- 2 - possivelmente não compraria
- 1 - certamente não compraria

Amostra	Valor
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

4. Comente o que você mais gostou e menos gostou na amostra de um MODO GERAL:

MAIS GOSTOU: _____

MENOSGOSTOU: _____