UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

RODRIGO PITANGA GUEDES

**Obtenção de uísque cortado a partir de destilados alcoólicos
simples de malte de cevada (*Hordeum vulgare*) e de quirera de
arroz preto IAC-600 (*Oryza sativa*)**

LORENA
2013

RODRIGO PITANGA GUEDES

**Obtenção de uísque cortado a partir de destilados alcoólicos
simples de malte de cevada (*Hordeum vulgare*) e de quirera de
arroz preto IAC-600 (*Oryza sativa*)**

Tese apresentada à Escola de Engenharia de Lorena
da Universidade de São Paulo para a obtenção do
título de Doutor em Ciências do Programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia Industrial na área de
Conversão de Biomassa.

Orientador: Prof. Dr. João Batista de Almeida e Silva

Edição reimpressa e corrigida

LORENA
AGOSTO, 2013

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na Publicação

Biblioteca “Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite”

Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Guedes, Rodrigo Pitanga

Obtenção de uísque cortado a partir de destilados alcoólicos simples de malte de cevada (*Hordeum vulgare*) e de quirera de arroz preto IAC-600 (*Oryza sativa*) / Rodrigo Pitanga Guedes. – ed. reimpr., corr. – 2013.

142 p. : il.

Tese (Doutor em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2013.

Orientador: João Batista de Almeida e Silva

1. Uísque cortado 2. Quirera. 3. Arroz preto 4. Malte de cevada. 5. Enzimas exógenas. I. Título. II. Silva, João Batista de Almeida e, orient.

663.551 - CDU

A minha família pela presença sempre constante em minha vida, agradeço a amizade e o amor dedicados a mim.

O respeito ao próximo e a humildade foram sedimentados na educação que recebi.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me protege junto com os entes espirituais. Em diversos momentos, de alguma forma, me deram força para continuar com paciência, perseverança e coragem de enfrentar as dificuldades encontradas nesta caminhada. Muito obrigado.

Ao meu irmão e grande amigo Rafael, que me apoia incondicionalmente, ilumina minha vida pela simples existência, faz companhia mesmo quando não está presente, ensina a viver com suas atitudes e principalmente por me faz sentir o que é amor incondicional. Te amo e agradeço muito por tudo que fez e faz na minha vida. Muito obrigado.

Ao meu irmão Renato, que inspira o esforço com o seu exemplo de dedicação aos estudos e determinação para atingir seus objetivos. Saudades da convivência diária. Te amo. Muito obrigado.

Mais uma vez aos meus pais que sempre fizeram o seu melhor, que estiveram sempre presentes, me amaram cada um da sua forma, me apoiaram em tudo que fiz na vida e sempre torceram pelas minhas vitórias, estando ou não ao meu lado. Amo vocês. Muito obrigado.

A minha vó Esther, que esbanja amor, carinho e bom humor para todos. Ser humano invejável, que contagia a todos com seu exemplo de perseverança e força de vontade de viver. Que venham os aniversários para passar dos 100 anos de vida, se assim ela e Deus quiserem. Te amo. Muito obrigado.

A amizade, harmonia, colaboração e oportunidade de ter conhecido e convivido com o grupo de alunos de pós-graduação da cervejaria: o bem humorado gaúcho Diogo, a atenciosa e gentil Raquel e o companheiro Orerves que nunca vi reclamando, que já deixam saudades. Agradeço ao Orerves pela ajuda incondicional em momentos cruciais na execução deste trabalho. Muito obrigado.

A aluna de iniciação científica Natália Perez, sempre paciente, disposta, alegre, responsável, que realizava todas as atividades laboratoriais com o mesmo entusiasmo. Agradeço também a aluna Michelle Atanes. Muito obrigado.

A amizade e orientação da Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia, sempre disponível a prestar colaborações e apresentar sugestões em todos os momentos em que foi solicitada. Muito obrigado.

Ao professor Prof. Dr. João Batista de Almeida e Silva pela orientação, amizade e ajuda fornecida durante a execução deste trabalho. Muito obrigado.

Aos meus amigos Mário Antunes Alves da Cunha e Aline Siqueira Ferreira, pelos momentos de prosa, pela presença sempre marcante em minha vida, pela demonstração de amizade e carinho dedicados a mim e pela ajuda na realização deste trabalho. Tenho admiração por vocês. Muito obrigado.

Ao amigo Woton, professor do IFET-RP, que me apoiou em momentos difíceis e colaborou junto ao departamento e a instituição para o meu afastamento, possibilitando a dedicação total e exclusiva ao término do meu doutorado. Muito obrigado.

Ao querido amigo e professor de inglês Cláudio, que colaborou imensamente para a aprovação na prova de inglês deste Programa de Pós-Graduação. Muito obrigado.

As primas Nádia Mogyca e Virgínia Pelissari, e ao Caio Mogyca que contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigado.

Ao casal Rodrigo e Fátima Cortez que sempre me acolheram como um filho e estão sempre prontos para conversar, comemorar, compartilhar os bons e maus momentos. Muito obrigado.

Aos amigos e amigas que compreenderam a minha ausência durante a execução deste trabalho, me apoiaram e que colhem os frutos desta conquista. Em especial a Rachel Rocha Pinheiro e Josiane Domingues. Muito obrigado.

A amizade dos meus ex-alunos e ex-alunas, que estiveram presentes e interessados em saber como eu estava, apoiaram e incentivaram a chegada deste momento. Muito obrigado.

Aos amigos Cláudio Donato e Flávio Ferraz pela colaboração, conversas descompromissadas e pelos churrascos descontraídos. Muito obrigado.

Pela amizade e carinho da Bruna Caroline, que colaborou em momentos importantes deste trabalho. Muito obrigado.

A amizade dos alunos João Paulo, Priscila, Daniel Rivaldi, Daniel Torres, Daniela Cortez, Túlio Lima, Bárbara, Isabela, Bruno Guedes, Omar, Aline, Ivy, Wagner, e a todos que estiveram presentes. Muito obrigado.

A atenção dispensada pelos técnicos: Nicanor, Zé Moreira, Bárbara, Fabrício, Zé cobrinha, Cléber, Djalma, Paulinho, que sempre ajudaram incondicionalmente. Muito obrigado.

Aos guardas da EEL, pelas conversas e companhia em todos os momentos. Muito obrigado.

A amizade e presteza do André Silva, que teve paciência e sempre colaborou na resolução de problemas durante a realização do doutorado. Muito obrigado.

A ajuda irrestrita, com demonstração de carinho pelo que fazem, dos funcionários Isnaldi, Walkíria e Nadir, e também pela sua simpatia, presteza e auxílio em todos os momentos. Ao Maurício e Paulo do setor de transportes. Muito obrigado.

A todos os profissionais da oficina da Escola de Engenharia de Lorena, especialmente ao Marcolino, Ricardinho, Ordilei e Ivo, que compareceram diversas vezes na planta da escala piloto de 125L da Micro-cervejaria para reparos. Muito obrigado.

A atenção e amizade do Marco Ramos, que atendeu a todos os pedidos de reparação de problemas encontrados durante a execução deste trabalho. À presteza e educação do Silvinho. Muito obrigado.

A orientação e ajuda pela doação e/ou empréstimo de materiais imprescindíveis na execução deste trabalho pela Prof^a. Dr^a. Maria das Graças, Prof. Dr. Arnaldo Márcio, Prof.

Dr. Flávio Ferraz, Prof. Dr. Ismael, Prof^a. Dr^a. Eleonora, Prof. Dr. Walter, Prof. Dr^a. Bernardete, Prof. Dr. Carlos Shigue, Prof^a. Dr^a. Inês. Muito obrigado.

A colaboração da Prof^a. Dr^a. Marília Gaspar, da técnica Lúcia e Prof^a. Dr^a. Úrsula Lanfer, a Marileide e ao Raimundo do ITEP, que tornaram possível a realização de importantes análises deste trabalho. Muito obrigado.

Agradeço à gentileza da análise de água realizada pelo Departamento de Hidráulica e Saneamento da USP de São Carlos. Muito obrigado.

A Jéssica Rocha de Cantanhede pelo carinho, apoio e amizade dispensados. Muito obrigado.

Aos funcionários da biblioteca, Regina Horta, Bruno, Celma, Dora, pela atenção e presteza na ajuda prestada. Muito obrigado.

A Sandra Borges, Maria Aparecida e Ana Beatriz, que sempre estavam de bom humor e prontas para ajudar em todas as ocasiões. Muito obrigado.

Ao Lucas e Lauro, funcionários de P&D da *Pernod Ricard*, que por diversas vezes ajudaram na execução deste trabalho, além de participarem da análise descritiva quantitativa dos uísques. Muito obrigado.

As doações das empresas Arroz Preto Ruzene, Ambev, Malteria do Vale, *Pernod Ricard* e Prozyn. Muito obrigado.

Ao Departamento de Biotecnologia da EEL – USP, pela oportunidade de realização do doutorado. Muito obrigado.

A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, muito obrigado pelo tempo dedicado. Este trabalho foi apenas mais um, em relação a todos os outros em que já participei e onde a contribuição de todos os envolvidos foi de suma importância para que tudo transcorresse como deveria ter sido. Muito obrigado.

Cada um que passa em nossa vida,
passa sozinho,
pois cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra.
Cada um que passa em nossa vida
passa sozinho,
mas não vai só,
nem nos deixa sós.
Leva um pouco de nós mesmos,
deixa um pouco de si mesmo. Há os que levam muito;
mas não há os que não levam nada. Essa é a maior
responsabilidade em nossas vidas
e a prova que duas almas não se encontram ao acaso.

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

GUEDES, R. P. **Obtenção de uísque cortado a partir de destilados alcoólicos simples de malte de cevada (*Hordeum vulgare*) e de quirera de arroz preto IAC -600 (*Oryza sativa*)**. 2013. 142 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2013.

De acordo com a legislação brasileira o uísque cortado é produzido com a mistura de, no mínimo, 30% de destilado alcoólico simples de malte envelhecido, com destilados alcoólicos simples de cereais envelhecidos ou não, e neste trabalho foi utilizada a quirera de arroz preto IAC-600 para produzir uísque, pois tem alto valor nutricional, propriedades antioxidantes e baixo custo. A quirera de arroz preto IAC-600 foi inicialmente hidrolisada em escala de bancada de 500mL seguindo o planejamento fatorial 2^3 completo, com seis experimentos no ponto central, analisando os parâmetros tempo, adição da enzima ProteMax N600[®] ou Maltezyne W[®] e a concentração das enzimas Brautec alfa TF[®] e Maltezyne W[®]. De acordo com a análise estatística, a melhor condição obtida na região estudada foi com a utilização de 1000mg de Brautec alfa TF[®]/kg de amido em base seca e 750mg de Maltezyne W[®]/kg de quirera de arroz preto IAC-600 em base seca a 95°C por 30min, sendo adicionado posteriormente 500mg de Maltezyne W[®]/kg de quirera de arroz preto IAC-600 em base seca a 60°C até a hidrólise do amido resultar em teste de iodo negativo, sendo esta condição utilizada em escala de bancada de 15L e em escala piloto de 125L. Em todas as fermentações com quirera de arroz preto IAC-600 adicionou-se 10g da enzima Panzyn GA[®]/hL de meio fermentativo, após a inoculação com a levedura. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, pré-tratada ou não a 40°C/1h, foi utilizada na concentração de 0,4g peso seco/L de meio fermentativo. Em escala de bancada de 15 L os resultados de produtividade volumétrica em etanol, dos ensaios fermentativos com quirera de arroz preto IAC-600 e malte de cevada, com levedura pré-tratada ou não, não apresentaram diferença significativa. Portanto, nas fermentações das matérias-primas em escala piloto de 125L utilizou-se levedura sem pré-tratamento, e os fermentados obtidos foram destilados separadamente em alambique de 160L. O destilado alcoólico simples de malte de cevada que foi envelhecido aceleradamente por nove dias e o de quirera de arroz preto IAC-600 que não foi envelhecido foram misturados na proporção de 30% e 70%, e também 50% e 50%, respectivamente, resultando em dois uísques cortados a 40°GL com o teor de polifenóis de 141 e 229mg/L equivalente em ácido gálico, respectivamente. Estes dois uísques cortados foram analisados sensorialmente em relação a um uísque puro malte envelhecido 12 anos e um *bourbon*, encontrados no mercado mundial, por 125 provadores voluntários não treinados da EEL-USP. Considerando que o uísque cortado produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido foi avaliado positivamente nos parâmetros cor e sabor quando comparado aos outros três uísques, e que não houve diferença significativa na aceitação global entre os quatro uísques avaliados, este uísque cortado possui potencial mercadológico como um produto novo, apresentando sabor diferenciado em relação aos dois uísques comerciais. Por outro lado, a análise descritiva quantitativa realizada por dez provadores treinados da *Pernod Ricard*, nos dois uísques produzidos neste trabalho, demonstrou que o processo de envelhecimento acelerado não forneceu os atributos aromáticos desejados, sendo necessário o aperfeiçoamento ou a substituição desta metodologia.

Palavras-chave: Uísque cortado. Quirera. Arroz preto. Malte de cevada. Enzimas exógenas.

ABSTRACT

GUEDES, R. P. **Getting blended whiskey from single distilled alcoholic of barley malt (*Hordeum vulgare*) and broken IAC-600 Black Rice (*Oryza sativa*)**. 2013. 142 p. Thesis (Doctoral in Science) – Engineering School of Lorena, University of São Paulo, 2013.

According to Brazilian law, the blended whiskey is produced by mixing at least 30% of aged single malt distilled alcohol with aged or not single alcoholic distillates from cereal, and this study used broken IAC-600 black rice to produce whiskey, due to its high nutritional value, antioxidant properties and low cost. The broken IAC-600 black rice was initially hydrolyzed at bench scale (500mL) following the 2^3 full factorial design with six assays at central point, analyzing the parameters time, addition of ProteMax N600[®] or Maltezym W[®] enzymes and the concentration of the Brautec alfa TF[®] and Maltezym W[®] enzymes. According to statistical analysis, the best condition obtained at the studied region was with 1000mg Brautec alfa TF[®]/kg starch (dry basis) and 750mg Maltezym W[®]/kg of broken IAC-600 black rice (dry basis) at 95°C for 30min. Subsequently, 500mg Maltezym W[®]/kg of broken IAC-600 black rice was added at 60°C until starch hydrolysis results in negative iodine test, and this condition was used at bench scale (15L) and at pilot scale (125L). In all the fermentations with broken IAC-600 black rice 10g Panzyn GA[®]/hL of fermentative medium was added after the inoculation with the yeast. The *Saccharomyces cerevisiae* yeast, pretreated or not at 40°C/1h, was used at 0.4g dry weight/L of fermentative medium. At bench scale (15L), the results of ethanol volumetric productivity in the fermentation assays with broken IAC-600 black rice and barley malt with yeast, pretreated or not, showed no significant difference. Therefore, in the raw materials fermentations at pilot-scale (125L), the yeast without pretreatment was used, and the obtained washes were separately distilled into 160L still. The single alcoholic distillate of barley malt that was rapidly aged for nine days and the broken IAC-600 black rice that was not aged were mixed at ratios of 30% and 70% and also 50% and 50%, respectively, obtaining two blended whiskeys at 40°GL with 141 and 229mg/L polyphenol contents equivalent to gallic acid, respectively. These two blended whiskeys were sensory analyzed in relation to a 12 year-old pure malt whiskey and to a bourbon found in the world market, by 125 volunteers untrained tasters of EEL-USP. Considering that the blended whiskey produced with 50% of aged single alcoholic distillate of barley malt and 50% of not aged single alcoholic distillate of broken IAC-600 black rice was positively evaluated in color and taste parameters when compared to the other three whiskeys, and that there was no significant difference in acceptability among the four whiskeys evaluated, this blended whiskey has marketing potential as a new product, presenting distinctive taste compared to the two commercial whiskeys. In the other hand, the quantitative descriptive analysis made by ten trained tasters of *Pernod Ricard* about the two whiskeys produced in this work showed that the process of rapid aging did not provide the desired aromatic attributes, requiring the improvement or substitution of this methodology.

Keywords: Blended whiskey. Broken Black rice. Barley. Exogenous enzymes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Arroz preto integral e (B) quirera de arroz preto IAC-600	38
Figura 2. Quirera de arroz preto IAC-600: da esquerda para direita tem-se a foto da quirera de arroz preto IAC-600 sem moagem, moída uma e duas vezes	52
Figura 3. Malte de cevada: da esquerda para direita tem-se a foto do malte de cevada inteiro, moído uma e duas vezes	52
Figura 4. Placa de Petri: da esquerda para direita tem-se a foto da solução de iodo 0,2N adicionada ao hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 que não apresenta cor roxo-azulada (teste do iodo negativo) e da solução de iodo 0,2N com sua cor original	54
Figura 5. Equipamentos: da esquerda para direita tem-se a foto da tina de mosturação (ou hidrólise), da tina de filtração e da tina de resfriamento	56
Figura 6. Tina de fermentação de 125L	59
Figura 7. Alambique de cobre de 20L	60
Figura 8. Alambique de cobre de 160L	61
Figura 9. Esquema do alambique utilizado para as destilações (adaptado de ALCARDE et al., 2009)	62
Figura 10. Formulário utilizado no Teste de Aceitação	71
Figura 11. Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa extrato original (°P) com a utilização da enzima ProteMax N600® (B = -1), sendo A a variável tempo em níveis codificados, e C a variável concentração das enzimas Brautec alfa TF® e Maltezyne W® em níveis codificados	78
Figura 12. Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa extrato original (°P) com a utilização da enzima Maltezyne W® (B = +1), sendo A a variável tempo em níveis codificados, e C a variável concentração das enzimas Brautec alfa TF® e Maltezyne W® em níveis codificados	79
Figura 13. Camada filtrante ou “torta” de bagaço quirera de arroz preto IAC-600	81
Figura 14. Hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 no galão de vidro de 20L	81
Figura 15. Valores experimentais da produtividade volumétrica e rendimento em etanol, utilizando levedura sem pré-tratamento	83
Figura 16. Valores experimentais da produtividade volumétrica e rendimento em etanol, utilizando levedura pré-tratada	83
Figura 17. Camada filtrante ou “torta” de bagaço de malte de cevada	85
Figura 18. Mosto de malte de cevada no galão de vidro de 20L	85
Figura 19. Valores experimentais da produtividade volumétrica e rendimento em etanol, utilizando levedura sem pré-tratamento	87
Figura 20. Valores experimentais da produtividade volumétrica e rendimento em etanol, utilizando levedura pré-tratada	87
Figura 21. (A) Destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600, a 40°GL, não envelhecido e (B) destilado alcoólico simples de malte de cevada, a 40°GL, não envelhecido	90
Figura 22. (A) Raspas de madeira de carvalho europeu <i>Nobile intense</i> ; (B) erlenmeyer com 6L de destilado alcoólico simples de malte de cevada a 45°GL com 90g de raspas de carvalho europeu <i>Nobile intense</i> pronto para o início do envelhecimento acelerado e (C) destilado alcoólico simples de malte de cevada a 43°GL envelhecido por nove dias a 50°C	92

Figura 23. (A) Uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600; (B) uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 e (C) destilado alcoólico simples de malte de cevada a 42°GL envelhecido por nove dias a 50°C	93
Figura 24. Uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido (A) e uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido (B).....	101
Figura 25. Gráfico-aranha da intensidade dos aromas encontrados nas amostras de uísques cortados produzidos na Microcervejaria da EEL-USP de Lorena.....	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características químicas para uísque estabelecidas pela Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (BRASIL, 2011b)	29
Tabela 2. Valores movimentados pela importação de uísque escocês pelos 11 maiores importadores mundiais em 2011 e 2012 (adaptado de SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013)	34
Tabela 3. Volumes movimentados, em milhões de garrafas de 700mL de uísque escocês, pelos 11 maiores importadores mundiais em 2011 e 2012 (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013)	35
Tabela 4. Temperaturas finais de gelificação do amido de farinha de cinco variedades de arroz.....	45
Tabela 5. Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 com seis ensaios no ponto central.....	53
Tabela 6. Resultados das análises físico-químicas da água retirada do poço artesiano localizado no Campus I da Escola de Engenharia de Lorena/USP.....	73
Tabela 7. Valores experimentais da análise da quirera de arroz preto IAC-600 e do malte de cevada.....	75
Tabela 8. Valores experimentais dos teores de amido total em base seca e úmida da quirera de arroz preto IAC-600.....	75
Tabela 9. Resultados dos experimentos de hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600, da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 com seis ensaios no ponto central, expressos em extrato original (°P)	76
Tabela 10. Valores das interações de primeira, segunda e terceira ordem das variáveis A, B e C analisadas no planejamento fatorial 2^3	77
Tabela 11. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes e dos extratos originais dos hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600.....	82
Tabela 12. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes e dos teores alcoólicos dos fermentados de hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600 produzidos em escala de bancada de 15L com levedura pré-tratada ou não, e dos respectivos destilados.....	84
Tabela 13. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes e dos extratos originais dos mostos filtrados de malte de cevada.	86
Tabela 14. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes e dos teores alcoólicos dos fermentados de mosto filtrado de malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L com levedura pré-tratada ou não, e dos respectivos destilados	88
Tabela 15. Volume e teor em etanol do fermentado do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 produzido em escala piloto de 125L, e dos respectivos destilados obtidos.....	90
Tabela 16. Volume e teor em etanol do fermentado do mosto filtrado de malte de cevada produzido em escala piloto de 125L, e dos respectivos destilados obtidos	91
Tabela 17. Teores dos congêneres e contaminantes encontrados nos destilados alcoólicos simples de malte de cevada, não envelhecido e envelhecido.....	93
Tabela 18. Teores dos congêneres e contaminantes encontrados nos destilados alcoólicos simples de malte de cevada e de quirera de arroz preto IAC-600 produzidos em escala piloto de 125L e destilados em alambique de 160L e dos uísques cortados produzidos	96
Tabela 19. Teores dos congêneres e de cobre encontrados em um uísque cortado produzido e engarrafado no Brasil (1), em dois uísques escoceses cortados engarrafados no Brasil (2 e 3), em vários uísques escoceses	

cortados (4), em vários uísques escoceses *bourbon* (5) e nos uísques cortados produzidos neste trabalho (6 e 7)..... 98

Tabela 20. Teores de polifenóis expressos como equivalente em ácido gálico (mg/L) nos fermentados de quirera de arroz preto IAC-600 e malte de cevada, produzidos com levedura pré-tratada ou não, em escala de bancada de 15L e escala piloto de 125L, e nos seus respectivos destilados e também nos uísques cortados produzidos 99

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1. UÍSQUE	23
2.1.1. História	23
2.1.2. Processo de produção.....	24
2.1.2.1. Cereais	24
2.1.2.1.1. Cevada	25
2.1.2.2. Microrganismo	25
2.1.2.3. Fermentação.....	25
2.1.2.4. Destilação.....	27
2.1.2.4.1. Caracterização dos congêneres do uísque	28
2.1.2.5. Envelhecimento.....	29
2.1.2.6. Produção do uísque cortado	30
2.1.3. Regulamentação do uísque brasileiro.....	30
2.1.4. Regulamentação do uísque escocês.....	31
2.1.5. Benefícios à saúde.....	32
2.1.6. Mercado	33
2.2. ARROZ PRETO	36
2.2.1. História	36
2.2.2. Características.....	36
2.2.2.1. Propriedades antioxidantes.....	39
2.2.2.1.1. Antocianinas e a saúde.....	40
2.2.3. Produtos industriais.....	42
2.2.3.1. Produtos alcoólicos	44
2.2.3.1.1. Hidrólise enzimática do amido.....	44
2.2.4. Mercado	46
2.3. CEVADA	46
2.3.1. História	46
2.3.2. Características	47
2.3.3. Mercado	48
2.4. ANÁLISE SENSORIAL.....	48
2.4.1. Análise descritiva quantitativa	49
3. OBJETIVOS.....	50
3.1. OBJETIVO GERAL.....	50
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	50
4. MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1. MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS PARA A PRODUÇÃO DOS UÍSQUES CORTADOS	51
4.1.1. Água.....	51
4.1.2. Quirera de arroz preto IAC-600	51
4.1.3. Malte de cevada	51
4.2. OBTENÇÃO DO MEIO FERMENTATIVO FILTRADO.....	51
4.2.1. Moagem das matérias-primas	51
4.2.2. Obtenção do hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 e do mosto de malte de cevada	52
4.2.2.1. Obtenção do hidrolisado filtrado da quirera de arroz preto IAC-600	52
4.2.2.2. Obtenção do mosto filtrado de malte de cevada.....	55
4.2.2.3. Filtração do hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 e do mosto de malte de cevada	57
4.3. MICRORGANISMO	57
4.3.1. Pré-tratamento do microrganismo	57
4.4. FERMENTAÇÃO.....	58
4.4.1. Fermentação em escala de bancada de 15L.....	58
4.4.2. Fermentação em escala piloto de 125L	58
4.5. DESTILAÇÃO	59
4.6. ENVELHECIMENTO DO DESTILADO ALCOÓLICO SIMPLES DE MALTE DE CEVADA OBTIDO EM ALAMBIQUE DE 160L.....	63
4.7. ARMAZENAMENTO DO DESTILADO ALCOÓLICO SIMPLES DE QUIRERA DE ARROZ PRETO IAC-600 E ARMAZENAMENTO DO UÍSQUE DE MALTE DE CEVADA	63
4.8. OBTENÇÃO DOS UÍSQUES CORTADOS A 40°GL.....	63

4.9. ENGARRAFAMENTO DOS UÍQUES CORTADOS A 40°GL	64
4.10. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	64
4.10.1. Determinação de pH	64
4.10.2. Determinação da umidade	64
4.10.3. Determinação do teor de amido total da quirera de arroz preto IAC-600	64
4.10.4. Análises físico-químicas da água.....	65
4.10.5. Determinação da densidade	65
4.10.6. Determinação do extrato aparente, original e real.....	65
4.10.7. Identificação e determinação dos teores dos carboidratos	66
4.10.8. Determinação do teor de polifenóis	66
4.10.9. Parâmetros da hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 e da mosturação de malte de cevada	66
4.10.10. Métodos analíticos das fermentações.....	67
4.10.10.1. Determinação da concentração celular.....	68
4.10.10.2. Parâmetros fermentativos	68
4.10.11. Caracterização química dos destilados alcoólicos simples de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada e dos uísques obtidos	69
4.11. ANÁLISE SENSORIAL DOS UÍQUES	70
4.11.1. Análise descritiva quantitativa dos uísques.....	71
4.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1. CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS PARA PRODUÇÃO DOS UÍQUES CORTADOS.....	73
5.1.1. Água	73
5.1.2. Determinação de umidade e pH da quirera de arroz preto IAC-600 e do malte de cevada.....	74
5.1.3. Determinação do teor de amido total da quirera de arroz preto IAC-600	75
5.2. OBTENÇÃO DO HIDROLISADO DE QUIRERA DE ARROZ PRETO IAC-600 EM ESCALA DE BANCADA NO MOSTURADOR DE 500ML.....	75
5.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS EXPRESSOS EM EXTRATO ORIGINAL (°P), DOS EXPERIMENTOS DE HIDRÓLISE DA QUIRERA DE ARROZ PRETO IAC-600 EM ESCALA DE BANCADA DE 500ML.....	76
5.4. OBTENÇÃO DO HIDROLISADO FILTRADO DE QUIRERA DE ARROZ PRETO IAC-600 EM ESCALA DE BANCADA DE 15L.....	81
5.5. FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO FILTRADO DE QUIRERA DE ARROZ PRETO IAC-600 NA ESCALA DE BANCADA DE 15 L.....	82
5.5.1. Produtividade volumétrica em etanol e rendimento no fermentado de hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 produzido em escala de bancada de 15L.....	82
5.6. DESTILAÇÃO DO FERMENTADO DE QUIRERA DE ARROZ PRETO IAC-600 EM ESCALA DE BANCADA NO ALAMBIQUE DE 20L.....	84
5.7. OBTENÇÃO DO MOSTO FILTRADO DE MALTE DE CEVADA NA ESCALA DE BANCADA DE 15 L.....	85
5.8. FERMENTAÇÃO DO MOSTO FILTRADO DE MALTE DE CEVADA NA ESCALA DE BANCADA DE 15L	86
5.8.1. Produtividade volumétrica em etanol e rendimento no fermentado de mosto filtrado de malte de cevada produzido em escala de bancada de 15L.....	86
5.9. DESTILAÇÃO DO FERMENTADO DO MOSTO FILTRADO DE MALTE DE CEVADA EM ESCALA DE BANCADA NO ALAMBIQUE DE 20L.....	88
5.10. OBTENÇÃO DO HIDROLISADO FILTRADO DE QUIRERA DE ARROZ PRETO IAC-600 E FERMENTAÇÃO EM ESCALA PILOTO DE 125L.....	89
5.11. OBTENÇÃO DO MOSTO FILTRADO DE MALTE DE CEVADA E FERMENTAÇÃO EM ESCALA PILOTO DE 125L	89
5.12. DESTILAÇÃO EM ESCALA PILOTO NO ALAMBIQUE DE 160L DO FERMENTADO DO HIDROLISADO FILTRADO DE QUIRERA DE ARROZ PRETO IAC-600 E DE MALTE DE CEVADA	89
5.13. ENVELHECIMENTO DO DESTILADO ALCOÓLICO SIMPLES DE MALTE DE CEVADA E OBTENÇÃO DOS UÍQUES CORTADOS	91
5.14. ANÁLISES QUÍMICAS DOS UÍQUES CORTADOS.....	95
5.15. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE POLIFENOIS	98
5.16. ANÁLISE SENSORIAL.....	101
5.17. ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA	102
6. CONCLUSÕES	104

SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	107
REFERÊNCIAS.....	109
APÊNDICES	127

1. INTRODUÇÃO

Durante a realização de ensaios fermentativos com o hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 à 30°C, o aroma exalado permitiu que a ideia de fazer um uísque surgisse. Neste momento iniciou-se a revisão de literatura para a produção de um uísque com esta matéria-prima, a qual poderia conferir características organolépticas únicas ao produto.

O Decreto brasileiro nº 6871 de 4 de junho de 2009 que regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de junho de 1994, define o uísque como uma bebida produzida a partir da fermentação de grãos de cereais, com graduação alcoólica de 38 a 54°GL, a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples de cereais envelhecidos, parcial ou totalmente maltados, podendo ser adicionado destilado alcoólico simples de cereais.

O maior exportador mundial de uísque é a Escócia, que exportou 4,27 bilhões de libras em 2012 (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2012), e entre as quatro diferentes categorias de uísque escocês (*scotch whisky*) as exportações de garrafas de uísques cortados atingiram 2,6 milhões de libras em 2010 (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2010).

Baseado nesta informação e na potencialidade da utilização da quirera de arroz preto, neste projeto avaliou-se o desenvolvimento do uísque cortado (*blended whisky*), o tipo mais vendido no mundo. No Brasil, o uísque cortado é definido como aquele obtido pela mistura de, no mínimo, 30% de destilado alcoólico simples de malte envelhecido, com destilados alcoólicos simples de cereais, envelhecidos ou não (BRASIL, 2009).

Em relação à produção nacional, no Brasil existem 69 indústrias produtoras de uísque (BRASIL, 2011a), que são insuficientes para abastecer o mercado interno, visto que o Brasil ficou em 11º lugar em relação a valor de importação de *scotch whisky* no mundo, em 2012 (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013).

De acordo com Panek (1989), o uísque é uma bebida produzida a partir da fermentação de grãos de cereais, que apresentam de 40 a 90% da massa seca constituída por amido. O arroz apresenta teor de amido em torno de 80% (AKOH et al., 2008), e o cultivo do arroz preto tem crescido nos últimos anos em diferentes países. O crescimento ocorreu devido ao interesse culinário, pois este é nutricionalmente rico em antocianinas (STINTZING; CARLE, 2004).

No Brasil, o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), órgão da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, desenvolveu a IAC-600, primeira cultivar de arroz preto, para ser plantada

em São Paulo, e que atualmente está sendo comercializada ao consumidor final. Porém, durante o beneficiamento, os grãos podem ser quebrados, produzindo um subproduto denominado quirera. A quirera é usada para a produção de amido, maltodextrina, xarope com alto teor de frutose, xarope de glicose, farinha com alto teor de proteína, cerveja, destilados e alimentos para animais (ROSEFL; MARCO, 2008).

A indústria de bebidas tem lançado produtos inovadores no mercado, como as *vodkas* com sabores e uísque com canela e uísque com mel. Em 2009 a *Jim Beam* lançou o *Red Stag*, um *bourbon* com sabor de cereja, e uma pesquisa da *Nielsen* para a *Jim Beam* em 2012, informou que os uísques com sabor foram responsáveis por 75% do incremento no setor. A quirera de arroz preto IAC-600 foi utilizada para produção de uísque cortado com a mistura de 30% ou 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 70% ou 50% de destilado alcoólico simples de grão puro (quirera de arroz preto IAC-600), respectivamente obtendo-se características sensoriais peculiares, agregando valor a este subproduto.

A linha de pesquisa de produção de bebidas destiladas utilizando matérias-primas alternativas ocorre no Grupo de Microbiologia Aplicada e Bioprocessos do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena – Universidade de São Paulo, desde 1997, com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Seu principal interesse é gerar processos e produtos viáveis e inovadores na sua linha de atuação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. UÍSQUE

2.1.1. História

Na língua gaélica *uisge beatha* ou *usquebaugh* significa “água da vida”, e o primeiro relato de produção de uísque ocorreu na Escócia em 1494 (ANON, 1494¹; CRAIG, 1994² apud RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003), e o seu consumo pode ter sido para o prazer da corte real, mas legalmente era um tônico usado para “fins medicinais”. Por exemplo, a cidade de Edimburgo concedeu o monopólio da destilação do uísque para uma associação médica em 1505, e esta recebeu aprovação real em 1506 (SCOTT-MONCRIEFF, 1916³ apud RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003).

Embora seja aceito que a arte da destilação tenha sido trazida para a Escócia por monges irlandeses, posteriormente, as destilarias domésticas de uísque se desenvolveram em meados do século XVI (SCOTT-MONCRIEFF, 1916³ apud RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003). Apesar das raízes monásticas na Irlanda e na Escócia, a destilação do uísque foi desenvolvida comercialmente ao longo de vários séculos em diferentes continentes. O primeiro registro de uma transação comercial envolvendo o fornecimento de uísque (em latim, *aqua vitae*) ocorreu entre o monastério Beneditino, na cidade de Fife, e o Tribunal do rei James IV de Holyrood, em Edimburgo, em 1494 (ANON, 1494¹ apud RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003).

Em 1555, após uma colheita ruim no oeste da Escócia, o Parlamento escocês decretou que os grãos deveriam ser utilizados nas cidades escocesas de Ayr, Irvine, Glasgow e Dumbarton, somente para o preparo do pão, cerveja e *aqua vitae* (SCOTT-MONCRIEFF, 1916³ apud RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003).

A fabricação do uísque começou a tornar-se um processo regulamentado apenas no século XIX (MURRAY, 1997), apesar dos processos básicos de produção permanecerem inalterados por séculos (GOODWIN; FINLAYSON; LOW, 2001). Os países produtores de uísque de malte incluem Austrália, Canadá, República Checa, Inglaterra, França, Índia,

¹ ANON. *Lord High Treasurer of Scotland's Accounts*, 1, 176, 1494.

² CRAIG, H. C. In: *The Scotch Whiskey Industry Record*. **Index Publishing**, p. 7–347, 1994.

³ SCOTT-MONCRIEFF, R. **The early use of *aqua vitae* in Scotland**. In: *Proceedings of the Society of Antiquaries of Scotland*, 3, 1916.

Japão, Nova Zelândia, Paquistão, Suécia, Irlanda do Norte, Escócia, Estados Unidos, Turquia e País de Gales (MURRAY, 1997). A palavra *whisky* é utilizada no mundo todo, com exceção da Irlanda, Estados Unidos e em alguns produtos canadenses onde é usado *whiskey*. No Brasil, a grafia correta é uísque (HOUAISS et al., 2001), entretanto pode ser usado *whisky* ou *whiskey* para se referir à bebida.

2.1.2. Processo de produção

O uísque é uma bebida produzida a partir da fermentação de grãos de cereais, que apresentam de 40 a 90% da massa seca constituída por amido (PANEK, 1989).

O uísque escocês tem duas formas principais e distintas, o uísque de malte de cevada e o uísque de grão de outro cereal. Uísque puro malte (*pure malte whisky*) é produzido inteiramente a partir de malte de cevada como fonte de cereal. Por outro lado, o uísque de grão (*grain whisky*) é produzido a partir cereais não maltados, como trigo, milho ou centeio, os quais são processados juntos com pequena quantidade de malte de cevada, os quais fornecem as enzimas para converter o amido em açúcares fermentáveis (BRINGHURST; BROADHEAD; BROSANAN, 2003).

O uísque de malte de cevada é importante para a indústria do uísque escocês, tanto para produção de uísque puro malte quanto para uísques misturados ou cortados (*blended whisky*) com a adição de destilados de grãos (BURNS, 1995; LANG, 1983). Uísques cortados escoceses são geralmente produzidos pela mistura entre quatro a cinquenta (frequentemente 20) destilados de malte com dois a cinco destilados de grãos (BOOTH; SHAW; MORHALO, 1989), para produzir um uísque com características mais harmoniosas.

2.1.2.1. Cereais

A maioria das marcas famosas é de uísque escocês cortado (*blended whisky*), produzido a partir de uísque de grãos de malte de cevada e de uísque de outros cereais (NICOL, 1989), como trigo, milho ou centeio.

O principal polímero de armazenamento em plantas é o amido, formado por amilose e amilopectina (AKOH et al., 2008), em proporções diferentes, dependendo da variedade do cereal. As propriedades físicas e a funcionalidade dos grãos são fortemente dependentes da relação entre os constituintes amilose e amilopectina. A amilose é um homopolímero linear, formado pela união de D-glicoses (até 6000 unidades) por ligações glicosídicas $\alpha(1,4)$, enquanto a amilopectina é altamente ramificada e constituída por

moléculas de D-glicose (até dois milhões) unidas por ligações $\alpha(1,4)$ e $\alpha(1,6)$. A ramificação na amilopectina inicia com uma ligação $\alpha(1,6)$, a partir da qual uma cadeia linear com 10 a 60 unidades de glicose são unidas por ligações $\alpha(1,4)$ e novas ramificações surgem em cadeias laterais possuindo de 15 a 45 unidades de D-glicose. O modelo mais comumente aceito para a estrutura da amilopectina é o modelo de cluster, em que as cadeias laterais são ordenadas em grupos sobre as cadeias principais

2.1.2.1.1. Cevada

Para o processo de produção de uísque puro malte de cevada, primeiramente a cevada é mergulhada em água para germinar, e depois passa pela secagem, que frequentemente é realizada pela queima da turfa, para dar ao malte um aroma característico, produzindo a cevada maltada (GOODWIN; FINLAYSON; LOW, 2001).

A cevada maltada é moída e misturada com a água na tina de mostura, e nas condições ideais as enzimas do malte de cevada fazem a hidrólise do amido em açúcares solúveis (GOODWIN; FINLAYSON; LOW, 2001). A cevada maltada possui as enzimas responsáveis pela hidrólise enzimática do amido. O poder diastásico é essencialmente a atividade total das enzimas α e β -amilase (INSTITUTE OF BREWING, 1997). Porém, somente a atividade da β -amilase possui uma elevada correlação com o poder diastásico (BRIGGS et al., 2004), sendo que para a β -amilase a faixa de temperatura ótima é de 60 a 65°C e o pH de atuação de 5,4 a 5,6 (TSCHOPE, 2001).

Durante a mosturação, é realizado o teste com solução de iodo a fim de verificar se a hidrólise do amido ocorreu. Se for verificada a hidrólise do amido, a mosturação é interrompida, e nesse momento o mosto é clarificado utilizando a própria casca do malte de cevada como camada filtrante, obtendo-se uma solução denominada mosto doce (MUNROE, 1994; ALMEIDA e SILVA, 2005).

2.1.2.2. Microrganismo

O inóculo foi preparado a partir de células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na forma liofilizada. A concentração de levedura liofilizada de 0,4g peso seco/L de meio fermentativo foi utilizada.

2.1.2.3. Fermentação

O mosto doce (GOODWIN; FINLAYSON; LOW, 2001) é posteriormente adicionado à tina de fermentação, e utilizado na etapa que consiste na bioconversão dos

açúcares fermentescíveis em etanol, gás carbônico, energia na forma de adenosina trifosfato (ATP) e calor, que ocorre pela ação da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, em condições anaeróbias, além da produção de compostos de aroma e sabor, sendo chamada de fermentação alcoólica (MUNROE, 1994; ALMEIDA e SILVA, 2005). Monoses são metabolizadas pela via glicolítica até piruvato, e então o etanol é produzido a partir de duas reações consecutivas. A primeira reação é a descarboxilação do piruvato a acetaldeído e CO₂, que é catalisada pela enzima piruvato descarboxilase. Na segunda reação, o acetaldeído formado é reduzido a etanol pela regeneração do cofator nicotinamida (NAD) oxidado na reação catalisada pela enzima álcool desidrogenase (AZEREDO, 1999).

A partir de uma molécula de glicose, são produzidas duas moléculas de ATP e aproximadamente 218kJ de calor, pois a fermentação alcoólica é uma reação exotérmica. Potencialmente podem ser produzidos 51,14g de etanol e 48,86g de CO₂, a partir de 100g de glicose. Quando 51,14g de etanol são gerados a partir de 100g de glicose, o rendimento da fermentação é de 100%. No entanto, o rendimento da fermentação é ligeiramente menor que o valor teórico porque uma parte da energia proveniente dos açúcares é usada para o crescimento da levedura e geração de subprodutos, sendo o rendimento em torno de 80% do açúcar total (açúcar fermentescível e açúcar não fermentescível) (FUJIEDA et al., 2012). De acordo com Yokoya (1995), parte dos açúcares é usada para reações paralelas, como formação de glicerol, ácido succínico, butanodiol e outros compostos, assim como alcoóis superiores que também são produzidos durante o processo fermentativo. Os congêneres são compostos secundários provenientes do processo fermentativo (CAMPBELL, 2003).

O uísque, como a maioria das outras bebidas alcoólicas destiladas, quando adquiridas pelo consumidor, é essencialmente uma mistura de água, álcool etílico e congêneres, na proporção aproximada de 59,9%, 40% e 0,1%, respectivamente (AYLOTT, 2003). Os congêneres incluem alcoóis, ácidos carboxílicos, ésteres, compostos carbonílicos e hidrocarbonetos alifáticos, compostos heterocíclicos de enxofre, compostos nitrogenados heterocíclicos, compostos polifenólicos simples, aldeídos fenólicos, sulfetos e compostos oxigenados heterocíclicos (PIGGOTT; CONNER, 2003a). Os congêneres caracterizam as bebidas fornecendo aroma e sabor únicos, e os alcoóis superiores, ésteres e ácidos graxos, quantitativamente e qualitativamente são os grupos de substâncias mais importantes presentes nestas bebidas, sendo os alcoóis superiores os mais abundantes (LEHTONEN; JOUNELA-ERIKSSON, 1983). Fermentações com menos de 40 horas afetam a produção

de congêneres produzindo uma bebida inferior (RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003).

Durante a fermentação o aumento no teor de alcoóis superiores ocorre quando a temperatura é aumentada para 30°C, na produção de uísque (MERRITT, 1966). A temperatura de fermentação do malte de cevada para produção de uísque pode exceder a 30°C, mas a redução nos níveis de alcoóis superiores não é desejada para o processo comercial. É observada também a diminuição no teor de ácidos graxos em temperaturas maiores (KRAUSS; FORTH, 1975; NORSTEDT et al., 1975). A temperatura ótima de 30°C para a formação de éster de acetato coincide com a temperatura ótima para a formação dos alcoóis, sugerindo que a disponibilidade de alcoóis superiores determina a formação de éster de acetato (KRAUSS; FORTH, 1975). Os resultados sugerem que os ésteres podem ser divididos em dois grupos neste contexto, ésteres de acetato de alcoóis superiores, cuja formação está relacionada com a disponibilidade de alcoóis superiores, e ésteres etílicos de ácidos graxos, cuja formação está relacionada com disponibilidade de ácidos graxos (NORSTEDT et al., 1975).

Van Gheluwe et al. (1975) relataram que alterações no pH do mosto tiveram efeito no teor da maioria dos alcoóis superiores, na produção de uísque e de cerveja. As concentrações de ésteres de ácidos graxos, por outro lado, foram reduzidas quando o pH inicial ficou abaixo de 4,5. A formação de ácidos na fermentação contaminada por bactérias normalmente diminui o pH para 4,0 ou menos durante a fermentação. Estes resultados indicam que uma redução no pH, como resultado da produção excessiva de ácidos através da contaminação bacteriana (DOLAN, 1976), poderia diminuir a formação de ésteres em fermentações.

2.1.2.4. Destilação

A destilação é um processo de volatizar líquidos pelo aquecimento, condensando-os a seguir, objetivando especialmente a purificação ou o aumento da concentração de substâncias, assim como a formação de produtos novos por decomposição das substâncias existentes (JUSTINO; MUTTON; MUTTON, 2005).

A dupla destilação é baseada na metodologia utilizada para a produção de uísque (PIGGOTT; CONNER 2003b). Na primeira destilação é realizado o esgotamento de todo o etanol do vinho, sem cortes, até que o destilado na saída do alambique apresente 21°GL de etanol, sendo chamado de *low wines* (PIGGOTT; CONNER 2003b). Na segunda destilação, o ponto de corte no início e no fim da coleta do destilado é crítico para a

qualidade do produto, e pode ser alterado de uma destilaria para outra. O *low wines* é destilado e procede-se a separação das frações “cabeça”, “coração” ou uísque (destilado recuperado de 75 a 60°GL) e “cauda”. A graduação alcoólica final do “coração” ou uísque normalmente deve estar entre 65 e 75°GL, dependendo da destilaria (PIGGOTT; CONNER, 2003b).

A mistura das frações “cabeça” e “cauda”, obtidos na segunda destilação, a um novo *low wines* pode ser realizada para aumentar o volume e a graduação alcoólica do mesmo (PIGGOTT; CONNER, 2003b), proporcionando o aumento do volume final do “coração” ou uísque obtido nesta nova destilação com aumento do teor de congêneres.

A destilação é realizada em alambiques de cobre, seguida de envelhecimento, normalmente em barris de carvalho (PIGGOTT; CONNER, 2003b).

2.1.2.4.1. Caracterização dos congêneres do uísque

Com o avanço nas técnicas de cromatografia acoplada com a espectrometria de massa e a cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, o número de compostos identificados no uísque tem aumentado consideravelmente (PIGGOTT; CONNER, 2003a).

Os compostos incluem alcoóis, ácidos carboxílicos, ésteres, compostos carbonílicos e hidrocarbonetos alifáticos, compostos heterocíclicos de enxofre, compostos nitrogenados heterocíclicos, compostos polifenólicos simples, aldeídos fenólicos, sulfetos e compostos oxigenados heterocíclicos (PIGGOTT; CONNER, 2003a).

De acordo com Ramsay e Berry (1984) a análise de alcoóis é um método importante para verificação da autenticidade do uísque escocês, com particular atenção para o teor de metanol, *n*-propanol, 2-metil-2-propanol, 2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol, sendo esta análise facilmente realizada com cromatografia gasosa com fase estacionária polar e detector de ionização de chama (GONZALEZ; GONZALEZ-LARA, 1994).

De acordo com Gonzalez-Arjona et al. (1999) os congêneres mais concentrados no uísque são quatro alcoóis superiores: 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol, propan-1-butanol e 2-metil-1-butanol; sendo que o perfil dos dois primeiros alcoóis é importante para detectar a autenticidade do uísque irlandês.

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011, complementou os padrões de identidade e qualidade para sete bebidas alcoólicas destiladas comercializadas em todo o

território nacional, inclusive o uísque, apresentada no anexo desta Instrução Normativa, e disponibilizada na Tabela 1, que transcreve os teores máximos permitidos de diferentes componentes no uísque e o teor mínimo da soma dos congêneres no caso do uísque cortado.

Tabela 1. Características químicas para uísque estabelecidas pela Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (BRASIL, 2011b).

Componentes	Unidade	Limite	
		Mínimo	Máximo
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100 mL de álcool anidro	----	150
Álcool metílico	mg/100 mL de álcool anidro	----	20
Alcoóis superiores*	mg/100 mL de álcool anidro	----	300
Aldeído, em acetaldeído	mg/100 mL de álcool anidro	----	20
Chumbo	mg/L	----	0,2
Cobre	mg/L	----	5,0
Ésteres, em acetato de etila	mg/100 mL de álcool anidro	----	150
Furfural e hidroximetilfurfural**	mg/100 mL de álcool anidro	----	5,0
Somatório dos congêneres***	mg/100 mL de álcool anidro	100	----

Fonte: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA

Notas: ---- Dado numérico não disponível

* Alcoóis superiores = somatório das concentrações de álcool *n*-propílico, álcool iso-butílico e alcoóis iso-amílicos

** Somatório de furfural e hidroximetilfurfural

*** Descrito como coeficiente de congêneres na Normativa nº15

2.1.2.5. Envelhecimento

Para o envelhecimento de uísque, os toneis usados são feitos de carvalho americano ou europeu. O desenvolvimento do sabor e aroma durante o envelhecimento envolve diferentes processos na produção de congêneres (PHILP, 1986). Durante o armazenamento do uísque por muitos anos em barris de madeira, tanto o aroma quanto o sabor são suavizados, e este processo é chamado de envelhecimento. Um dos principais componentes liberados do barril são os polifenóis derivados da lignina e tanino. Os polifenóis são responsáveis pelo aroma e sabor do uísque envelhecido (NISHIMURA; MATSUYAMA, 1989).

2.1.2.6. Produção do uísque cortado

Após o envelhecimento, ocorre a seleção específica do uísque de malte e de grãos para a produção de uísque cortado (RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003). Uísques cortados escoceses são geralmente produzidos pela mistura entre quatro a cinquenta (frequentemente 20) destilados de malte com dois a cinco destilados de grãos (BOOTH; SHAW; MORHALO, 1989). O produto resultante é muito complexo, com muitos congêneres, incluindo alcoóis, aldeídos, ácidos graxos, ésteres, polifenóis, compostos de enxofre e nitrogênio (MAARSE; VISSCHER, 1985; SCOTCH WHISKY ASSOCIATION et al., 1981).

2.1.3. Regulamentação do uísque brasileiro

O Decreto nº 6871 de 4 de junho de 2009, regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de junho de 1994, e trata na Seção IV sobre os destilados alcoólicos e bebidas alcoólicas destiladas. O Artigo 55 desta Seção define uísque, *whisky* ou *whiskey*, como a bebida com graduação alcoólica de 38 a 54°GL, a 20°C, obtida do destilado alcoólico simples de cereais envelhecidos, parcial ou totalmente maltados, podendo ser adicionado álcool etílico potável de origem agrícola, ou destilado alcoólico simples de cereais, bem como água para redução da graduação alcoólica e caramelo para correção da cor (BRASIL, 2009).

O parágrafo primeiro daquele artigo denomina o uísque como: I) uísque malte puro ou *whisky* puro malte ou *pure malt whisky*, quando a bebida for elaborada exclusivamente com destilado alcoólico simples de malte envelhecido ou *malt whisky*, com o coeficiente de congêneres não inferior a 350mg/100mL de álcool anidro; II) uísque cortado (*blended whisky*), quando a bebida for obtida pela mistura de, no mínimo, 30% de destilado alcoólico simples de malte envelhecido ou *malt whisky*, com destilados alcoólicos simples de cereais, álcool etílico potável de origem agrícola ou ambos, envelhecidos ou não, com o coeficiente de congêneres não inferior a 100mg/100mL de álcool anidro; III) uísque de cereais ou *grain whisky*, quando a bebida for obtida a partir de cereais reconhecidos internacionalmente na produção de uísque, sacarificados, total ou parcialmente, por diástases da cevada maltada, adicionada ou não de outras enzimas naturais e destilada em alambique ou coluna, envelhecido por período mínimo de dois anos, com o coeficiente de congêneres não inferior a 100mg/100mL de álcool anidro; ou IV) *bourbon whisky* ou *bourbon whiskey*, quando a bebida for elaborada com, no mínimo, 50% de destilado alcoólico simples de milho, sacarificado com cevada maltada, envelhecido por período mínimo de dois anos, adicionado ou não de álcool etílico potável de origem agrícola,

podendo ser envelhecido ou não, com coeficiente de congêneres não inferior a 150mg/100mL de álcool anidro (BRASIL, 2009).

De acordo com este decreto, o parágrafo segundo do Artigo 55 regulamenta que o uísque engarrafado no território nacional somente poderá fazer uso das denominações de origem, ou seja, *scotch whisky*, *canadian whisky*, *irish whisky*, e outras reconhecidas internacionalmente, quando elaborado, exclusivamente, com matérias-primas importadas a granel, cujos destilados sejam produzidos e envelhecidos em seus respectivos países de origem e que mantenham as características determinadas por suas legislações, podendo apenas ser adicionado água para redução da graduação alcoólica e caramelo para a correção da cor. E, no parágrafo terceiro, subscrive que a porcentagem do destilado alcoólico simples de malte envelhecido, de milho ou de outros cereais empregados na elaboração do uísque, foi calculada em função do teor alcoólico expresso em volume de álcool anidro (BRASIL, 2009).

A Seção VI da mesma lei anteriormente citada, trata das bebidas alcoólicas obtidas por mistura, e subescreve no capítulo VIII, artigo 75, que destilado alcoólico simples de origem agrícola é o produto com graduação alcoólica superior a 54 e inferior a 95% v/v, a 20°C, destinado à elaboração de bebida alcoólica e obtido pela destilação simples ou por destilo-retificação parcial seletiva de mosto ou subproduto proveniente unicamente de matéria-prima de origem agrícola de natureza açucarada ou amilácea, resultante da fermentação alcoólica. O parágrafo primeiro daquele artigo define que a destilação deverá ser efetuada de forma que o destilado apresente aroma e sabor provenientes da matéria-prima utilizada, derivados do processo fermentativo e formados durante a destilação (BRASIL, 2009).

2.1.4. Regulamentação do uísque escocês

Em 1909 a lei britânica definiu *scotch whisky* (uísque escocês), sendo em 1989 reconhecida pela legislação da União Europeia. Porém, a legislação do Reino Unido foi alterada em 1988 e as Ordens dela decorrentes entraram em vigor neste país em junho de 1990 (DOLAN, 2003). Em 23 de novembro de 2009, foram substituídas pelas novas regulamentações, e enquanto a legislação anterior só relatava a forma pela qual o uísque escocês deveria ser produzido, as novas regulamentações também estabelecem como devem ser rotulados, embalados e anunciados comercialmente, além de exigir que o *scotch whisky* puro malte seja engarrafado na Escócia, a partir de 2012 (UNITED KINGDON, 2009).

Sobre o envelhecimento, segundo a lei atual, o uísque deve ser completamente envelhecido na Escócia, não podendo ocorrer em nenhum outro país. Esta alteração é uma forma de controlar e certificar o tempo de envelhecimento do uísque e também o tamanho e o tipo de barril utilizado (UNITED KINGDON, 2009).

Ocorreu uma alteração da definição de *blended scotch whisky* em relação à lei anterior. A nova lei define *blended scotch whisky* como uma combinação de um ou mais *scotch whisky* puro malte com um ou mais *scotch whisky* de grão puro, de acordo com a prática tradicional, enquanto *blended scotch whisky* puro malte significa uma mistura de dois ou mais uísques puro malte de destilarias diferentes, assim como para o uísque de grão puro (UNITED KINGDON, 2009).

Também é proibido o envelhecimento ou a mistura de uísques na Escócia que não o *scotch whisky*, para evitar o uso de descrições como "*whisky* envelhecido" ou "cortado" na Escócia, em destilados que não são *scotch whisky*. A expressão *scotch whisky* representa o uísque destilado e envelhecido na Escócia. Desde 23 de novembro de 2012, o *scotch whisky* puro malte é exportado apenas em garrafas para venda a varejo (UNITED KINGDON, 2009).

2.1.5. Benefícios à saúde

Muitos artigos usam a frase "consumo de álcool ou etanol", mas seria mais correto dizer o "consumo de bebidas alcoólicas", pois o etanol é comumente consumido na forma de uma bebida, como cerveja, vinho ou destilados (RIMM, 2001). Essas bebidas não contêm somente etanol, possuindo muitos compostos polifenólicos, tais como antocianinas, catequinas, taninos, e grupos destes compostos, comumente chamados de flavonoides. Estes compostos têm uma variedade de efeitos potencialmente benéficos na redução da incidência de doenças cardiovasculares (FOLTS, 2002).

Portanto parece que os compostos polifenólicos, derivados de plantas, encontrados em muitas bebidas alcoólicas, ao invés do etanol, podem ser os responsáveis por inibir os mecanismos que contribuam para a iniciação e progressão do processo aterosclerótico. Dentro do processo de pesquisa para avaliar o desenvolvimento da aterosclerose, estão os estudos epidemiológicos, que às vezes sugerem que o consumo moderado de qualquer tipo de bebida alcoólica possa conferir proteção contra a incidência de morte por infarto do miocárdio. No entanto, parece que as bebidas alcoólicas com maiores teores de substâncias polifenólicas podem oferecer melhor proteção contra a aterosclerose e doenças cardiovasculares (MANN; FOLTS, 2004).

É relatado que o consumo de bebidas ricas em polifenóis, como o vinho tinto, aumenta transitoriamente a capacidade antioxidante do plasma (SERFANI et al., 1996; WHITEHEAD et al., 1995) e sugere-se que pelo menos uma parte dos compostos polifenólicos nestas bebidas poderia ter um papel antioxidante *in vivo*.

Durante a última década, os efeitos saudáveis do vinho tinto foram estudados, e estudos epidemiológicos têm mostrado que a ingestão moderada de vinho tinto reduziu a incidência da doença cardíaca (STANLEY; MAZIER, 1999; SUN; SIMONYI; SUN, 2002).

Depois do consumo de 100mL de vinho tinto ou uísque, a capacidade antioxidante do plasma indica que alguns dos polifenóis destas bebidas são absorvidos pelo intestino, e proporcionalmente mais polifenóis foram absorvidos do uísque do que do vinho (DUTHIE et al., 1998). Diplock (1994) e Gronbaek et al. (1995) relataram que os compostos polifenólicos presentes nas bebidas alcoólicas têm função antioxidante *in vivo*. Estudos epidemiológicos em homens e mulheres têm sugerido uma associação em forma de parábola voltada para cima entre o consumo de álcool e a incidência de doença cardíaca coronária, ou seja, havia menos doença em consumidores moderados de etanol do que em abstêmios ou bebedores exagerados (BOFFETTA; GARFINKEL, 1990; KANNEL; ELLISON, 1996; MOORE; PEARSON, 1986; RIMM, 1996).

Os ácidos gálico e elágico, derivados de taninos e lioniresinol, uma lignina, são os principais polifenóis do uísque de puro malte de cevada, sendo o ácido elágico o mais encontrado (FUJEDA et al., 2008), enquanto no vinho tinto são os derivados da catequina (ROGGERO et al., 1997).

2.1.6. Mercado

O maior exportador mundial de uísque é a Escócia, e as exportações de *scotch whisky* tiveram recorde em 2012, atingindo o valor de 4,27 bilhões de libras, um aumento de pouco mais de 1% em relação a 2011 (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013), quando exportou 4,2 bilhões de libras, valor este que foi 23% maior em relação a 2010, quando atingiu 3,45 bilhões de libras (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2012). Nos últimos 10 anos verificou-se um aumento de 87% nas exportações, sendo que o valor das exportações cresceu pelo oitavo ano consecutivo (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013).

Entre as diferentes categorias de *scotch whisky*, as exportações de garrafas puro malte de cevada tem aumentado ao longo dos últimos 10 anos em 190%, indo de 268 para

778 milhões de libras (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013). Em relação aos uísques cortados, em 2009 as exportações foram 5% maiores do que no ano anterior, atingindo 2,6 milhões de libras (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2010).

Os Estados Unidos da América (EUA) continuam a ser o maior importador em termos de valor para o *scotch whisky*, ultrapassando a barreira dos 700 milhões de libras pela primeira vez, atingindo 758 milhões de libras em 2012. A demanda dos EUA deverá aumentar à medida que a confiança do consumidor cresce e muitas pessoas compram marcas *Premium* (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013).

As vendas na França apresentaram uma queda de 19% em valores em 2012, pois neste ano ocorreu um aumento dos impostos de 15 para 20%, o que levou a um aumento de vendas em 2011, quando foram estocados os uísques escoceses naquele país (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013).

O Brasil ficou em 11º lugar em relação a valor de importação de *scotch whisky* no mundo, em 2012 (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013). Em 2011, o mercado brasileiro foi o que mais cresceu em volume e em termos financeiros, com 33% e 48% respectivamente em relação a 2010, representando 99,2 milhões de libras em 2011, ocupando o 9º maior mercado em valor financeiro e o 8º em volume da bebida (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2012). No Brasil existem 69 indústrias produtoras de uísque (BRASIL, 2011a), e este número é insuficiente para abastecer o mercado interno.

A Tabela 2 mostra os números em milhões de libras, para os 11 maiores importadores da bebida em 2011 e 2012, enquanto a Tabela 3 apresenta os valores em milhões de garrafas de 700 mL negociadas nos mesmos anos para os 11 maiores importadores.

Tabela 2. Valores movimentados pela importação de uísque escocês pelos 11 maiores importadores mundiais em 2011 e 2012 (adaptado de SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013).

Posição	País	Milhões de libras em 2011	Milhões de libras em 2012	Variação em %
1º	Estados Unidos	654,9	758	16
2º	França	535,4	434	-19
3º	Cingapura	317,9	339,2	7
4º	Espanha	259,2	195,3	-25
5º	Alemanha	149,6	168,8	13
				continua

Posição	País	Milhões de libras em 2011	Milhões de libras em 2012	Variação em %
continuação				
6º	Taiwan	155,2	165,4	7
7º	África do Sul	165,5	161,6	-2
8º	Coréia do Sul	142,6	135,7	-7
9º	Venezuela	83,4	102,2	23
10º	México	80,8	91,8	14
11º	Brasil	99,2	83,6	-16

Tabela 3. Volumes movimentados, em milhões de garrafas de 700 mL de uísque escocês, pelos 11 maiores importadores mundiais em 2011 e 2012 (SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, 2013).

Posição	País	Milhões de garrafas em 2011	Milhões de garrafas em 2012	Variação em %
1º	França	205,3	153,9	-25
2º	Estados Unidos	130	127,5	-2
3º	Cingapura	63,1	64,2	2
4º	Espanha	74,8	60	-20
5º	Índia	56	58,6	5
6º	África do Sul	49,2	53,2	8
7º	Alemanha	49,9	52,5	5
8º	Brasil	46,9	46,1	-2
9º	México	32	35,3	11
10º	Tailândia	36,3	33,6	-7
11º	Venezuela	28,2	31,7	12

Como demonstração da importância e do mercado conquistado pelo uísque, a *Diageo*, uma das maiores multinacionais do ramo de bebidas, inaugurou a *Johnnie Walker House* em maio 2011, localizada no *Mansions Xangai Sinan*, que é a primeira casa da cultura do uísque fora da Escócia, e desde sua inauguração recebeu a visita de mais de 3.000 pessoas muito importantes (*very people important, VIPs*) criando uma cultura do uísque escocês na China (DIAGEO, 2012). Concomitantemente à abertura, ocorreu o lançamento da edição comemorativa da *Johnnie Walker 1910*, com somente 1000 garrafas numeradas, vendidas a 1,3 mil libras cada. Esta foi a primeira vez que a *Diageo* comercializou *Johnnie Walker* cortado em um único local no mundo (DIAGEO, 2010).

Em 2012 na China, o mercado cresceu 13% (DIAGEO, 2012), sendo que as vendas de uísque foram de aproximadamente 2,7 bilhões de dólares em 2010, 10% maior que o ano anterior (DIAGEO, 2011).

2.2. ARROZ PRETO

2.2.1. História

O arroz é um membro do gênero *Oryza* (*Gramineae*), das quais somente duas espécies são cultivadas: *Oryza sativa* e *Oryza glaberrima* (KHUSH, 1997). O arroz (*Oryza sativa* L.) é um alimento básico cultivado em mais de 100 países, sendo importante para cerca de metade da população mundial (BUTSAT; SIRIAMORNPUN, 2010; ZHOU et al., 2004), apreciado por muitas pessoas pelo sabor e textura característicos (BRYANT; McCLUNG, 2011).

Muitos cultivares de arroz, que contêm pigmentos, deram origem a inúmeras variedades de arroz vermelho e preto (ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006; CHO et al., 1999). O arroz preto é conhecido como o arroz da longevidade, em tributo à garantia de longa vida dos imperadores chineses (CHOI et al., 2007), e a cor escura do arroz resulta do alto teor de antocianinas localizadas nas camadas do pericarpo (ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006; CHO et al., 1999). Nos últimos anos as variedades de arrozes pigmentados têm recebido atenção aumentada devido às suas propriedades antioxidantes (ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006; AHUJA et al., 2007; CHUNG; SHIN, 2007; FINOCCHIARO et al., 2007; JANG; XU, 2009; SHEN et al., 2009).

2.2.2. Características

A composição do grão de arroz depende da espécie, dos fatores ambientais e do processamento industrial utilizado. As variedades podem ser classificadas de acordo com tamanho do grão, cor, aroma e teor de amilose. Com base no tamanho, pode ser longo (mais de 6,6mm), médio (entre 5,5 e 6,6mm), ou curto (menor que 5,5mm) (ROSEFL; MARCO, 2008).

Em relação às cores, pode ser preto, vermelho ou marrom, sendo que algumas espécies são aromáticas. Os grãos sem casca são marrons, devido à cor das três camadas de pericarpo que o cobrem (CHAMPAGNE et al., 2004). São classificados em cinco

grupos, de acordo com o conteúdo de amilose: *waxy* (1–2%), muito baixo (2–9%), baixo (10–20%), intermediário (20–25%) e alto (25–33%) (INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, 2009).

Mais de 200 compostos voláteis foram identificados no arroz (CHAMPAGNE, 2008; ZENG et al., 2008). Entre estes compostos, um número relativamente pequeno tem odor ativo (BUTERY; TURNBAUGH; LING, 1988), tais como, 2-acetilpirrol, α -pirrolidona e piridina, identificados como responsáveis pela aceitabilidade do consumidor pelo arroz, enquanto outras substâncias, como produtos de oxidação lipídica, hexanal, ácido acético e pentanoico, podem ter um efeito negativo na aceitabilidade (MAHATHEERANONT; KEAWSA-ARD; DUMRI, 2001).

O 2-acetilpirrol tem limiar de odor muito baixo (BUTERY; TURNBAUGH; LING, 1988), sendo frequentemente relatado como um importante composto aromático em muitos produtos alimentares, como arroz aromático, pão, chá verde, e pipoca (KUMAZAWA; MASUDA, 2002; WONGPORNCHAI; SRISEADKA; CHOONVISASE, 2003). O 2-acetilpirrol, guaiacol, indol e *p*-xileno são responsáveis pelo aroma único do arroz preto cozido (YANG et al., 2008). Desta forma, o arroz preto, que é muito popular em países asiáticos, é muitas vezes misturado com o arroz branco, antes de cozinhar, para realçar o sabor, a cor e aumentar o valor nutricional (RYU; PARK; HO, 1998).

O cultivo do arroz preto tem crescido nos últimos anos em diferentes países. Na Califórnia, o crescimento ocorreu devido ao interesse culinário, pois é nutricionalmente rico em antocianinas (STINTZING; CARLE, 2004). No Brasil, o Instituto Agrônomo de Campinas, órgão da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, desenvolveu a IAC-600, primeira cultivar de arroz preto, selecionado da variedade *Wang Xue Ren*, que veio da China, para ser plantada em São Paulo. Essa novidade abre mais uma opção para o rizicultor desse Estado, o maior consumidor de arroz do Brasil. A pesquisa com a variedade IAC-600 iniciou em 1994. Desenvolvida para o cultivo em condição de arroz irrigado e sequeiro com irrigação suplementar, da mesma forma que o arroz tradicional, sabe-se que do plantio à colheita são necessários 100 dias, e apresenta-se produtividade aceitável para o nicho de mercado, além de ser resistente a brusone, a principal doença do arroz (INSTITUTO AGRÔNOMO DE CAMPINAS, 2004). Durante o beneficiamento do arroz preto integral, os grãos podem ser quebrados, produzindo um subproduto denominado quirera (Figura 1).

Figura 1. (A) Arroz preto integral e (B) quirera de arroz preto IAC-600. Fontes: Foto (A) Superfoods (2011). Foto (B): Santos (2011).

A película que envolve o grão do arroz preto integral é rica em carboidratos, lipídios, proteínas, compostos polifenólicos, fibras, cobalto, além das vitaminas A, B1, B2, B3, B5, B6, B12, C e E (CHOI et al., 2007). Outros estudos descrevem o arroz como rico em carboidratos complexos, sendo fonte de proteínas e vitaminas, principalmente as vitaminas do complexo B (ROSEFL; MARCO, 2008), e possui minerais como ferro, zinco, manganês e fósforo (ZHANG; GUO; PENG, 2004), que variam com o cultivar e o local de produção (SUZUKI et al., 2004).

Porém, a composição química dos grãos com a remoção das camadas externas de farelo provoca perda de proteínas, lipídios, e de grande porcentagem das fibras, vitaminas e minerais. A casca representa 20% do grão e é composta de sílica e hemicelulose (CHAMPAGNE et al., 2004).

Entre as biomoléculas existentes, os carboidratos são os mais abundantes, com teor de amido em torno de 80%. O amido é o principal polímero de armazenamento em plantas, formado por amilose e amilopectina, em proporções diferentes, dependendo da variedade de arroz. O conteúdo deste homopolímero aumenta da superfície para o núcleo do grão, e assim, o arroz polido (branqueado) é rico em amido, que é uma das principais macromoléculas constituintes da dieta humana. As propriedades físicas e a funcionalidade dos grãos são fortemente dependentes da relação entre os constituintes amilose e amilopectina (AKOH et al., 2008).

No entanto, a amilose tem recebido mais atenção da comunidade científica, pois é considerada um indicador de qualidade de cozimento (FITZGERALD, 2004), sendo o arroz classificado em cinco diferentes grupos em função da porcentagem de amilose em sua composição (INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, 2009). O arroz com baixo teor de amilose (10-20%) torna-se úmido e pegajoso após o cozimento. De acordo com Santos (2011), o teor de amilose da quirera de arroz preto IAC-600 é 11,23% em base seca, portanto após o cozimento os grãos tornam-se úmidos e pegajosos. Quando o arroz possui teor de amilose intermediário (20-25%), torna-se seco e macio após o

cozimento, mantendo sua textura mole ao resfriar, sendo o preferido (ADU-KWARTENG et al., 2003). Há variedades que ficam secas e macias após o cozimento, mas tornam-se duras com o resfriamento. Consequentemente, esta classificação do arroz é um dos critérios mais importantes que interfere na qualidade culinária e nas propriedades de pasta (ADU-KWARTENG et al., 2003).

2.2.2.1. Propriedades antioxidantes

Todos os grãos de cereais são boas fontes de compostos antioxidantes, especialmente polifenóis (LIU, 2007). Cereais pigmentados, neste aspecto, são particularmente interessantes porque a coloração da semente é correlacionada com a presença de polifenóis (ABDEL-AAL et al., 2006; FINOCCHIARO et al., 2007; SHEN et al., 2009; YAWADIO; TANIMORI; MORITA, 2007), e o conteúdo destes compostos é altamente relacionado com a capacidade antioxidante (CHOI et al., 2007; FINOCCHIARO et al., 2007; GOFFMAN; BERGMAN, 2004; SHEN et al., 2009).

Quando o principal tipo de flavonoide associado à pigmentação do arroz e de outros cereais foi investigado, protocianidinas foram tipicamente encontradas nos grãos vermelhos e não nos pretos, enquanto altas concentrações de antocianinas foram encontradas apenas na semente preta (HOSSEINIAN et al., 2008; HU et al., 2007; JANG; XU, 2009; KNIEVEL et al., 2009; SHEN et al., 2009). Diversos trabalhos evidenciaram que o arroz preto é caracterizado pelo acúmulo de antocianinas, principalmente cianidina e peonidina-3-glicosídeo (ABDEL-AAL et al., 2006; JANG; XU, 2009; ZHANG et al., 2006), inclusive no arroz preto californiano, que também contém pequenas quantidades de cianidina-dihexosídeos (HIEMORI; KOH; MITCHELL, 2009). Resultado semelhante foi apresentado por Abel-Aal et al. (2006), que observaram a presença de vários diglicosídeos de cianidina e cianidina rutinosídeo, no entanto, a variedade de arroz não foi especificada. A cianidina-3-glicosídeo de arroz preto, tem efeito antioxidante, anti-inflamatório (HU et al., 2003), antiplaquetário e anti-anafilático (HAN et al., 2007; HAN et al., 2009), e a cianidina também têm atividade antioxidante e anti-inflamatória (ACQUAVIVA et al., 2003; TSUDA; HORIO; OSAWA, 2002). O arroz preto têm efeitos antialérgicos (HAN et al., 2007), e o farelo de arroz pigmentado inibe as reações alérgicas *in vitro* (CHOI; JEONG; LEE, 2007).

As antocianinas são uma subclasse dos flavonoides solúveis em água, responsáveis pelas cores de diversas frutas, legumes, cereais e flores (KONG et al., 2003; STINTZING; CARLE, 2004). Nas plantas, tem a função de atrair polinizadores dispersores de sementes,

além de atuar como foto-protetor que elimina os radicais livres gerados durante a fotossíntese (STINTZING; CARLE, 2004).

A estabilidade das antocianinas em alimentos é influenciada pelo pH, temperatura, ligações glicosídicas e interações com a matriz alimentar que ocorrem durante o processamento (DELGADO-VARGAS; JIMENEZ; PAREDES-LOPEZ, 2000).

2.2.2.1.1. Antocianinas e a saúde

O estilo de vida moderno provoca um aumento anual no número de doenças induzidas pelo estresse no mundo (BEGNI et al., 2004; GILGUN-SHERKI; MELAMED; OFFEN, 2001), e os problemas relacionados ao estresse incluem os fatores endógenos, tais como a idade associada à deterioração das funções vitais, o desequilíbrio nutricional e a redução da defesa imunológica; e os fatores exógenos, como o aumento da exposição aos raios ultravioletas (UV) decorrentes da destruição da camada de ozônio, e a maior exposição a poluentes ambientais (CHENG et al., 2001; OZBEN, 2004). O dano oxidativo, que também é provocado pelo estresse, é um fator negativo ao sistema circulatório (MUNZEL et al., 2008), sendo associado à principal causa de morte no mundo ocidental atual, as doenças cardiovasculares (ROBERTS et al., 2007). Esta patologia tem origem complexa e multifatorial, sendo considerados como fatores de risco o elevado teor plasmático de colesterol total e de lipoproteína de baixa densidade (LDL), e a diminuição no plasma do teor de lipoproteína de alta densidade (HDL) (SAMAH; FOSTER; MAKRI, 2007). De acordo com a hipótese da modificação oxidativa, o LDL acumulado no espaço extracelular subendotelial das artérias é oxidado, sendo altamente aterogênico. A célula possui vários sistemas antioxidantes, tais como pequenas moléculas (tocoferóis e ácido ascórbico) e enzimas como superóxido dismutase, catalase, e aquelas relacionadas com glutatona (McELIGOT; YANG; MEYSKENS, 2005), sendo assim o conteúdo celular destes antioxidantes um fator determinante na intensidade dos danos provocados pelo LDL oxidado e/ou pelos radicais livres derivados do oxigênio, que são continuamente produzidos na célula durante o seu metabolismo, através de diversos mecanismos, tais como ciclo redox de substâncias bioquímicas ou excessiva ativação de fagócitos (McELIGOT; YANG; MEYSKENS, 2005).

Estudos demonstram que a dieta é a primeira abordagem terapêutica para hiperlipoproteinemias, e quando acompanhada do uso de antioxidantes e agentes hipocolesterolêmicos, são mais efetivos para restringir o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas (REVILLA et al., 2009), sendo relevante na prevenção e tratamento de

doenças cardiovasculares. No entanto, evidências recentes também indicam que muitos compostos bioativos não existem uniformemente no grão de cereal, mas estão concentrados na casca e farelo (BUTSAT; SIRIAMORPUN, 2010), portanto o consumo de grãos integrais nas refeições regulares é altamente recomendado para fornecer benefícios desejáveis à saúde, pois proporcionam nutrição básica e reduzem os riscos de muitas doenças crônicas (LIU, 2007). Desta forma, o arroz integral possui um potencial antioxidante muito maior do que o grão branco polido (GOFFMAN; BERGMAN, 2004; ZHOU et al., 2004).

A crescente preocupação na área de saúde e o crescimento do mercado de alimentos saudáveis elevaram o uso industrial de compostos bioativos (LU et al., 2008; XIA et al., 2006). Como o arroz colorido é amplamente conhecido pelas suas propriedades promotoras da saúde (OKI et al., 2002) e não é tóxico e nem mutagênico (DE PASCUAL-TERESA; SANTO-BUELGA; RIVAS-GONZALO, 2002), atua como fonte viável de antioxidantes (LING; WANG; MA, 2002; REVILLA et al., 2009; SHAHIDI; HO, 2005), sendo considerado um alimento funcional (YAWADIO; TANIMORI; MORITA, 2007). O interesse em variedades de arroz colorido tem crescido desde que estes produtos demonstraram possuir propriedades notáveis na prevenção de doenças cardiovasculares (LING et al., 2001; LING; WANG; MA, 2002; SOMPONG et al., 2011), câncer (SOMPONG et al., 2011), e por evitar danos oxidativos que provocam tais doenças (LIN; WENG, 2006; SCALBERT; JOHNSON; SALTSMARCH, 2005; SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Estudos experimentais têm relatado que a suplementação com arroz colorido diminui o estresse oxidativo *in vivo* e aumenta simultaneamente a capacidade antioxidante *in vivo* e *in vitro* (HU et al., 2003; ICHIKAWA et al., 2001; GUO et al., 2007; NAM et al., 2006; LIN; WENG, 2006). O arroz preto tem alta capacidade de eliminação de radicais livres (LING; WANG; MA, 2002; SHAHIDI; HO, 2005), e muitos dos seus componentes benéficos incluem polifenóis, flavonoides, vitamina E, ácido fítico e γ -orizanol, que também eliminam espécies reativas de oxigênio, tais como peróxido lipídico e ânions superóxidos, além de diminuir o teor de colesterol (LEE et al., 2008; NAM; NAM; KANG, 2008).

Portanto, o recente interesse em antocianinas presentes em alimentos funcionais tem sido gerado pela sua potencial prevenção de doenças crônicas e degenerativas, devido a sua ação como antioxidante (HU et al., 2003; KIM et al., 2007), anti-inflamatório (HU et al., 2003), anti-ateroesclerogênese (XIA et al., 2006), anti-carcinogênico, (CHEN et al.,

2006), anti-hiperlipidêmico (KWON et al., 2007; GUO et al., 2007) e atividades hipoglicêmicas (SASAKI, et al., 2007). De acordo com Liu (2007) a ingestão regular de fitoquímicos pode reduzir os riscos de doenças crônicas como obesidade, doenças cardíacas, diabetes e câncer.

A natureza antioxidante do extrato de arroz preto rico em antocianina pode ser útil para aliviar as alterações patológicas causadas por etanol no fígado (VALCHEVA-KUZMANOVA et al., 2004). De acordo com Hou, Qin e Ren (2010), a administração de extrato de arroz preto rico em antocianina reduziu notavelmente as alterações histológicas causadas pelo etanol, que pode ser devido à diminuição da oxidação mediada pelo etanol e redução das alterações patológicas com a restauração da normalidade da função fisiológica.

De acordo com a hipótese de Schewe et al. (2008), os flavonoides da dieta podem interferir nos processos pró-oxidantes diretamente ou pela inibição das enzimas pró-oxidantes. Como mecanismo alternativo de seus efeitos no organismo, quando ingeridos regularmente, podem estimular as defesas antioxidantes endógenas, o que impede o desenvolvimento da doença ou reduz o impacto do estresse oxidativo quando ela ocorre (MOSKAUG et al., 2005).

2.2.3. Produtos industriais

O arroz pode ser utilizado para a obtenção de óleo, amido e proteínas, os quais são usados em várias aplicações industriais e alimentícias, podendo exigir processamento ou conversão no produto desejado (AKOH et al., 2008).

A moagem do arroz com casca produz arroz quebrado, farelo, casca e arroz branco. Diversos produtos com valor agregado têm sido desenvolvidos, tais como arroz convenientemente processado (parboilizado, germinados, dentre outros), farinha de arroz, arroz turfado e cereal para lanches (WILKINSON; CHAMPAGNE, 2004).

O arroz quebrado é usado para a produção de amido, maltodextrina, xarope com alto teor de frutose, xarope de glicose, farinha com alto teor de proteína, cerveja, destilados e alimentos para animais (ROSEFL; MARCO, 2008).

Nos últimos anos, o estudo de farelo de arroz para a identificação de ingredientes ativos teve grande importância, devido à atividade antioxidante, anti-aterogênico e a redução do colesterol (HA et al., 2005; JARIWALLA, 2001; MOST et al., 2005; PARRADO et al., 2003).

Proteínas de farelo são de alto valor nutricional (KENNEDY; BURLINGAME, 2003), hipoalergênicas (TSUJI; KIMOTO; NATORI, 2001), e tão eficazes quanto proteína

de soja para reduzir o teor de colesterol plasmático (MORITA et al., 1997). No entanto, sua alta insolubilidade devido à agregação causada por numerosas ligações dissulfeto limita o seu uso na dieta.

Alguns componentes dos lipídios do farelo são muito instáveis, devido à presença de lipase, que decompõe triglicérides, promovendo o ranço. Assim, embora o farelo seja uma fonte adequada de antioxidantes, lipídios e proteínas, é subutilizado, apesar de seu elevado potencial como matéria-prima para a preparação de alimentos funcionais ou nutracêuticos. Um novo produto de farelo de arroz tem sido desenvolvido, o extrato enzimático solúvel em água, que inclui todos os componentes acima citados (PARRADO et al., 2006).

O farelo de arroz preto contém antocianinas e outros tipos de ingredientes bioativos como inositol, fosfatos de inositol, glicosídeo cardíaco, fitosterol e minerais abundantes (ZHANG et al., 2006). Inositol, também conhecido como hexahidroxíciclohexano, tem nove formas diferentes. A mais conhecida e nutricionalmente ativa é o mio-inositol, que é vital para muitos processos biológicos do corpo, participando de atividades diversificadas (TAGLIAFERRI et al., 2000). O mio-inositol tem sido usado como substituto para niacina no tratamento convencional da hiperlipidemia, embora o mecanismo de ação ainda não esteja totalmente elucidado (LIANG et al., 2008). Mio-inositol ajuda a solubilizar a gordura facilitando o transporte entero-hepático (BENNANI; FABRE, 2001), sendo metabolizado em fosfatidil-inositol, substância muito importante para as membranas celulares (GIBSON; EHRLICH, 2008). D-quiro-inositol, um isômero natural do inositol, atua como mensageiro secundário em vários processos metabólicos, incluindo a glicemia (CID et al., 2004). Estudos clínicos farmacológicos mostram que D-quiro-inositol pode ajudar a tratar mulheres com síndrome de ovários policísticos, além de melhorar a sensibilidade à insulina (ALLAHBADIA et al., 2006). Estes dois tipos de inositois são encontrados geralmente em hortaliças e cereais integrais (CID et al., 2004).

A farinha de arroz tem um elevado valor nutricional e tem sido utilizada para formular vários produtos alimentares, como pudim, leite instantâneo e alimentos para bebês, tendo sido desenvolvido um processo de biocatálise para produzir derivados do amido e produtos com alto teor de proteína de arroz (AKOH et al., 2008).

Os cereais matinais que possuem flocos de arroz e cereais multigrãos, são preparados de uma forma semelhante a flocos de trigo e milho: o arroz cozido e revestido com ingredientes nutritivos (leite desnatado), posteriormente é seco parcialmente,

temperado e passa por rolos antes de ser assado no forno (WILKINSON; CHAMPAGNE, 2004).

Outro produto é o extrato enzimático de farelo de arroz, que é especialmente rico em orizanol (REVILLA et al., 2009). Este componente é cada vez mais usado como um ingrediente de nutracêuticos, fármacos e cosméticos. O γ -orizanol inibe a evolução do tumor, reduz os níveis séricos de colesterol e também pode ser usado para tratar desequilíbrio nervoso e distúrbios da menopausa (CICERO; GADDI, 2001).

2.2.3.1. Produtos alcoólicos

A produção industrial de etanol utiliza vários materiais amiláceos, tais como milho, trigo, batata, raízes de mandioca (MAIORELIA; WILKE; BLANCH, 1981), palha de milho (WILKE et al., 1981) e arroz quebrado ou quirera (ROSEFL; MARCO, 2008).

Bebidas alcoólicas tradicionais, produzidas de amido de arroz, são muito populares em muitas partes da Tailândia, como vinho de arroz e destilados (aguardentes). Sua produção ocorre localmente em grandes quantidades a cada ano. A popularidade do tradicional vinho e destilados de arroz tem aumentado neste país, com a produção artesanal e comercial. Existem mais de 225 vinícolas de arroz e 5764 destilarias comerciais na Tailândia (THAI EXCISE DEPARTMENT, 2004).

Devido ao seu aroma único, sabor sutil e baixo teor alcoólico, o vinho de arroz é amplamente consumido pelos chineses em todo o país (ZHANG; WU, 1999). É fermentado, a partir de arroz de baixa porcentagem de amilose (arroz pegajoso), por microrganismos tais como *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Monascus*, bactérias acéticas, bacilo lácteo e outros (ZHANG, 2004).

Os compostos polifenólicos predominantes no vinho de arroz preto foram ácido sirínico e (+)-catequina, os quais contribuem com aproximadamente 60% da quantidade total de polifenóis (QUE; MAO; PAN, 2006). As bebidas alcoólicas com maiores teores de substâncias polifenólicas podem oferecer melhor proteção contra a aterosclerose e doenças cardiovasculares do que apenas o etanol (MAN; FOLTS, 2004).

2.2.3.1.1. Hidrólise enzimática do amido

Tradicionalmente o amido foi, e ainda é, hidrolisado em glicose e dextrina de baixa massa molecular pelo uso de ácidos, mas o processo enzimático apresenta muitas vantagens: a) a especificidade das enzimas permite a produção de xaropes de açúcar com propriedades físicas e químicas bem definidas, b) a hidrólise enzimática resulta em poucas

reações colaterais (AKTINSON; MAVITUNA, 1991), c) alta eficiência, d) economia de energia, e) menor custo de equipamentos, f) menor produção de subprodutos indesejáveis, g) compatibilidade ambiental e, h) aceitação pelo consumidor como sendo um processo natural (AKOH et al., 2008).

Como etapa do processo de produção, inicialmente os grânulos armazenadores de amido sofrem gelificação por tratamento térmico. De acordo com Santos (2011), a temperatura de conclusão de gelificação do amido da quirera de arroz preto IAC-600 moído, determinada por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), corresponde a temperatura de 78,68°C. Resultados semelhantes são relatados por Vandeputte et al. (2003) com cinco variedades de arroz (Tabela 4).

Tabela 4. Temperaturas finais de gelificação do amido de farinha de cinco variedades de arroz.

Variedade	Temperatura final de gelificação (T_c) (°C)
Black Rice	75,7
IR 5	78,7
PSBRc 18	80,6
Puntal	79,0
Thaibonnet	79,0

Fonte: Vandeputte et al. (2003)

É possível fazer a liquefação utilizando uma α -amilase termoestável, que é adicionada à suspensão de amido e posteriormente aquecida a 105-110°C por 5 a 7 minutos, e após resfriada a 95°C permanecendo por 1 a 2 horas para completar o processo (VAN DER VEEN et al., 2006).

O amido liquefeito é então sacarificado em malto-oligossacarídeos de baixa massa molecular. O objetivo é hidrolisar os oligossacarídeos, principalmente aqueles com 8 a 12 unidades de glicose pela β -amilase para formar xarope de maltose, e pela glicoamilase (ou amiloglicosidase) para obter xarope de glicose (PANDEY, 1995).

Antes do processo de sacarificação, a temperatura deve ser diminuída para 60°C, e o pH ajustado entre 4,2 e 4,5 para que a glicoamilase catalise a reação eficientemente. O processo de aquecimento e resfriamento e o ajuste de pH são onerosos, pois consomem energia e tempo. Portanto, o ideal é a hidrólise do amido com a utilização de enzimas

diferentes atuando sob a mesma temperatura e pH, se possível, sem requisitar cofatores. Assim economizará energia e tempo, e aumentará a produtividade da enzima e o rendimento do produto desejado (AKOH et al., 2008).

Diferentemente de outros grãos, por exemplo, trigo, milho ou aveia, o arroz é cozido e consumido como grão inteiro (MANN; FOLTS, 2010). Foi relatado que os valores de açúcares redutores (MARUYAMA; HIGASHI; KAJITA, 1983), oligossacarídeos (TAJIMA; KATO; IIZUKA, 1994) e aminoácidos, como o ácido aspártico e glutâmico (MATSUZAKI et al., 1992) afetam significativamente o gosto do arroz cozido, e esses componentes químicos são acumulados durante o cozimento (KASAI et al., 2000).

2.2.4. Mercado

Desde novembro de 2012, a *Food and Agriculture Organization* (FAO) elevou a sua previsão de produção mundial de arroz em aproximadamente 1,5 milhões de toneladas, totalizando 730 milhões de toneladas, dos quais 487 milhões de toneladas de arroz moído. Considerando esta previsão, a produção mundial vai superar o recorde do ano passado por apenas 0,8%, ou 5,7 milhões de toneladas, sendo que este aumento de produção é devido à expansão da área total para 163 milhões de hectares, com produção prevista de 4,48 toneladas por hectare. O crescimento previsto é bastante lento e reflete, principalmente, os resultados negativos de culturas no Brasil e na Índia, que sofreram com condições climáticas desfavoráveis. A previsão é que os estoques mundiais de arroz fiquem em aproximadamente 171 milhões de toneladas em 2013, com particular aumento esperado para a China (FAO, 2013).

A estimativa de área plantada em arroz no Brasil na safra 2011/12 foi de 2426,7 mil hectares com estimativa de produção de 11599,5 mil toneladas, enquanto para a safra 2012/2013 a estimativa de área plantada é de 2409,5 mil hectares para produção de 11943,4 mil toneladas (CONAB, 2013).

2.3. CEVADA

2.3.1. História

A cevada é uma gramínea do gênero *Hordeum* (FREEMAN, 2002), e foi um dos grãos mais importantes no antigo mundo, sendo usada como alimento básico na Suécia e

outros países da Europa, e incluída em alguns pratos tradicionais (NEWMAN; NEWMAN, 1991; BHATTY, 1992), mas quando os grãos de alimentos alternativos, principalmente o trigo, tornaram-se disponíveis, o consumo de malte declinou (IZYDORCZYK; DEXTER, 2008). Apesar de ser utilizada como alimento básico em certas áreas do mundo, como no oeste da Ásia e norte da África (NEWMAN; NEWMAN, 1991; BHATTY, 1992), o consumo de alimentos baseados em cevada diminuiu, com exceção do uso para produção de bebidas alcoólicas, especialmente cerveja e uísque. Recentemente, porém, o interesse na cevada como grão alimentar está ressurgindo devido à presença de componentes capazes de impedir e aliviar certas doenças. Na última década, muitas das novas variedades de cevada estão disponíveis com composições químicas e propriedades diferentes, incluindo aquelas com genótipos *hull-less waxy* (CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY, 2008), e outras linhagens *hull-less* com alto teor de amilose, que foram criadas especificamente para usos alimentares em maior proporção do que para maltagem e produção de cerveja (IZYDORCZYK; DEXTER, 2008).

2.3.2. Características

O amido na cevada *waxy* contém de 96 a 100% de amilopectina. O gene recessivo *waxy* também aumenta o conteúdo nutricional de β -D-glucana com ligações glicosídicas $\alpha(1,3)$ e $\alpha(1,4)$, as quais são mais conhecidas como β -glucanas (ULLRICH et al., 1986).

O grão de cevada é uma excelente fonte de fibras alimentares solúveis e insolúveis, além de outros componentes bioativos, como vitamina E, vitaminas do complexo B, sais minerais e compostos polifenólicos (IZYDORCZYK; DEXTER, 2008; SLAVIN; MARQUART; JACOBS, 2000). As principais fibras constituintes da cevada, as β -glucanas, têm sido relacionadas na redução do colesterol plasmático, melhorando o metabolismo lipídico e reduzindo o índice glicêmico (BEHALL; SCHOLFIELD; HALLFRISCH, 2006; DELANEY et al., 2003; KEENAN et al., 2007).

Os valores nutricionais de outras fibras de cevada, mais notavelmente as arabinoxilanas, não foram avaliados da mesma forma que as β -glucanas (MAILLARD et al., 1996), e poucos estudos tratam sobre a atividade antioxidante dos compostos polifenólicos ligados à lignina ou arabinoxilanas (CRUZ et al., 1999; LEHTINEN; LAAKSO 1998), apesar de suas propriedades antioxidantes no malte de cevada ser duas vezes maiores que a dos compostos polifenólicos livres (MAILLARD et al., 1996). No entanto, estudos revelaram efeitos positivos das arabinoxilanas hidrossolúveis, presentes no milho, trigo e centeio, sobre a redução do teor de colesterol sérico e da produção de

ácidos graxos de cadeia curta e da melhor absorção de íons cálcio e magnésio (HOPKINS et al., 2003).

2.3.3. Mercado

A produção mundial de cevada em 2012 deve permanecer inalterada em relação a 2011, com aproximadamente 136 milhões de toneladas. Entre os maiores produtores mundiais, declínios significativos são esperados no Norte da África e da Ásia Central, que podem ser compensados pelo aumento na produção da União Europeia e América do Norte. Na União Europeia é esperado que a área produtora de cevada aumente em relação a 2011, refletindo largamente uma expansão de plantios de primavera, especialmente aonde as culturas de inverno foram danificadas e a ressemeadura ocorreu. Assumindo as condições normais, a produção na União Europeia deverá aumentar em aproximadamente 4%, para 54 milhões de toneladas. Nos Estados Unidos um aumento considerável no cultivo da cevada ocorreu e uma colheita maior é esperada. No Canadá, a previsão é de 15% de aumento, atingindo nove milhões de toneladas. O principal declínio este ano é esperado no Marrocos, devido à seca (FAO, 2012).

A estimativa de área plantada em cevada no Brasil na safra 2011/12 foi de 88,4 mil hectares com estimativa de produção de 305,1 mil toneladas, enquanto para a safra 2012/2013 a estimativa de área plantada é de 102,8 mil hectares para produção de 287,2 mil toneladas (CONAB, 2013).

2.4. Análise sensorial

De acordo com o Instituto Adolf Lutz (2008), a análise sensorial é realizada em função das respostas dos indivíduos às várias sensações que se originam de reações fisiológicas e são resultantes de certos estímulos, levando a interpretação das propriedades intrínsecas dos produtos. Para isto é preciso que haja entre os indivíduos e produtos, contato e interação.

O estímulo é medido por processos físicos e químicos e as sensações por efeitos psicológicos. As sensações podem dimensionar o gosto ou desgosto em relação ao produto avaliado. Nesta avaliação, os indivíduos, por meio dos próprios órgãos, numa percepção somato-sensorial, utilizam os sentidos da visão, olfato e paladar (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A análise sensorial pode ser realizada através do teste de aceitação utilizando a escala hedônica estruturada de nove pontos, com notas que variam de desgostei muitíssimo (1) até gostei muitíssimo (9) (DUTCOSKY, 1996), utilizando provadores não treinados.

2.4.1. Análise descritiva quantitativa

A análise descritiva quantitativa (ADQ[®]), de acordo com a metodologia descrita por Stone et al. (1974), visa estabelecer o perfil sensorial da amostra avaliada, determinando e intensificando os atributos sensoriais presentes.

A percepção sensorial no consumo de uma bebida normalmente apresenta a seguinte sequência de impressões: visual, causada pelo aroma, gustativa, da consistência e por último, a causada pelo aroma durante a degustação (MORAES, 1989).

Piggott e Jardine (1979) através de análise descritiva quantitativa apresentaram 35 termos descritivos para amostras de uísque com diferentes tempos de envelhecimento.

Destilados com elevados graus em etanol, como por exemplo o uísque, tem potencial para dificultar a análise olfativa, mesmo para provadores treinados. Em uma revisão das diretrizes para o manuseio das amostras na indústria de destilação de *scotch whisky*, o autor observou que as amostras deveriam ser fornecidas a 20%v/v, para evitar a fadiga olfatória (JACK, 2003).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver metodologia de produção de uísque empregando quirera de arroz preto IAC-600 como cereal fermentescível;

3.2. Objetivos específicos

Determinar a melhor condição de hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 em escala de bancada de 500mL;

Determinar se o efeito do tratamento a 40°C/1h sobre a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em escala de bancada de 15L nos hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600 e dos mostos filtrados de malte de cevada, apresenta diferença significativa na produtividade volumétrica em etanol;

Verificar se a planta da escala piloto de 125L é apropriada para a realização da hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 e sua posterior filtração;

Caracterizar quimicamente os destilados alcoólicos simples de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada;

Envelhecer aceleradamente o destilado alcoólico simples de malte de cevada;

Produzir dois uísques, um contendo 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido, e outro com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido;

Caracterizar quimicamente os uísques cortados produzidos neste trabalho;

Determinar a concentração de polifenóis dos fermentados, dos destilados alcoólicos simples e dos uísques cortados produzidos;

Realizar a análise sensorial dos uísques; e

Realizar a análise descritiva quantitativa (ADQ[®]) dos uísques produzidos neste trabalho.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados na Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo (EEL - USP). Exceto a determinação do teor de amido realizada no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica do Instituto de Botânica de São Paulo; a análise descritiva quantitativa realizada na *Pernod Ricard*; as análises químicas dos destilados alcoólicos simples e dos uísques produzidos neste trabalho realizados no ITEP (Instituto de Tecnologia de Pernambuco); e a análise da água que foi realizada no Departamento de Hidráulica e Saneamento da USP de São Carlos.

4.1. Matérias-primas utilizadas para a produção dos uísques cortados

As matérias-primas que foram utilizadas nos experimentos realizados foram: água, quirera de arroz preto IAC 600 e malte de cevada.

4.1.1. Água

A água que foi utilizada para obtenção do mosto, do destilado e limpeza das tinas foi retirada do poço artesiano localizado no Campus I da Escola de Engenharia de Lorena.

4.1.2. Quirera de arroz preto IAC-600

A quirera de arroz preto IAC-600 utilizado neste trabalho foi gentilmente doada pela indústria Arroz Preto Ruzene em sacos de 50kg.

4.1.3. Malte de cevada

O malte de cevada foi doado pela AmBev e Malteria do Vale, fornecidos em sacos de 50kg.

4.2. Obtenção do meio fermentativo filtrado

4.2.1. Moagem das matérias-primas

A quirera de arroz preto IAC-600 e o malte de cevada foram moídos separadamente em moinho de dois rolos, duas vezes consecutivas, primeiramente com um distanciamento entre rolos de 1,3mm e posteriormente com 0,7mm (TSCHOPE, 2001). A foto de quirera de arroz preto IAC-600 e o malte de cevada, não moído, moído uma vez e duas vezes encontram-se, respectivamente, nas Figuras 2 e 3.

Figura 2. Quirera de arroz preto IAC-600: da esquerda para direita tem-se a foto da quirera de arroz preto IAC-600 sem moagem, moída uma e duas vezes.

Figura 3. Malte de cevada: da esquerda para direita tem-se a foto do malte de cevada inteiro, moído uma e duas vezes.

4.2.2. Obtenção do hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 e do mosto de malte de cevada

4.2.2.1. Obtenção do hidrolisado filtrado da quirera de arroz preto IAC-600

Para determinar a melhor condição de hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 foi utilizado o planejamento experimental do tipo fatorial completo 2^3 com seis ensaios no ponto central. Os experimentos foram realizados na escala de bancada em aparelho mosturador LB Eletronic Mash Machine da marca Lochner (Labor + Technik, Alemanha) que possui quatro tinas, cada uma com volume de 500mL.

A massa de 79,8g de quirera de arroz preto IAC-600 foi moída duas vezes, conforme descrito no item 4.2.1, e adicionada na tina de 500mL, onde foi colocado 311g de água a temperatura ambiente. Então, o pH foi ajustado para 5,5 com solução de ácido láctico a 85% (m/v) e tamponado com CaCl_2 na proporção de 50ppm.

Posteriormente as enzimas Brautec alfa TF[®] e Maltezyn W[®] (variável C do planejamento experimental) foram adicionadas na tina de 500mL, nas concentrações referentes a cada ensaio, como apresentado na Tabela 5. Então, a tina foi aquecida até 95°C em banho-maria, e mantida nesta temperatura de acordo com o tempo determinado para cada ensaio (variável A do planejamento experimental), sendo então a temperatura

reduzida para 60°C, quando foi adicionada a enzima ProteMax N600® ou Maltezy W® (variável B do planejamento experimental) de acordo com cada ensaio, quando foi iniciado o teste com solução de iodo 0,2N, a fim de verificar se a hidrólise do amido da quirera de arroz preto IAC-600 ocorreu. Sequencialmente, a cada cinco minutos o teste de iodo foi realizado e a hidrólise foi considerada finalizada, quando a ausência da cor roxo-azulada indicou que o amido foi hidrolisado. A massa de arroz preto IAC-600 utilizada nos ensaios foi calculada para a obtenção de um hidrolisado a 15,5°P.

As concentrações sugeridas pela Prozyn são: faixa de 400 a 800mg de Brautec alfa TF®/kg de amido em base seca, concentração inicial de 500mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca e concentração inicial de 80mg de ProteMax N600®/100 g de matéria prima em base seca.

Após a hidrólise, os resultados foram expressos em extrato original (°P).

Tabela 5. Matriz do planejamento fatorial completo 2³ com seis ensaios no ponto central.

Ensaio	Nível codificado		
	A*	B**	C***
1	- 1	- 1	- 1
2	+ 1	- 1	- 1
3	- 1	+ 1	- 1
4	+ 1	+ 1	- 1
5	- 1	- 1	+ 1
6	+ 1	- 1	+ 1
7	- 1	+ 1	+ 1
8	+ 1	+ 1	+ 1
9	0	+ 1	0
10	0	+ 1	0
11	0	+ 1	0
12	0	- 1	0
13	0	- 1	0
14	0	- 1	0

A* (representa a variável tempo em níveis codificados):

- 1 (30 minutos)

0 (45 minutos)

+1 (60 minutos)

B** (representa a variável adição da enzima ProteMax N600® ou Maltezy W® em níveis codificados):

- 1 (80mg de ProteMax N600®/100g de matéria prima em base seca)

+ 1 (500mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca)

C*** (representa a variável concentração das enzimas Brautec alfa TF® e Maltezy W em níveis codificados):

- 1 (500mg Brautec alfa TF®/kg de amido em base seca e 250mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca)

0 (750mg Brautec alfa TF®/kg de amido em base seca e 500mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca)

+1 (1000mg Brautec alfa TF®/kg de amido em base seca e 750mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca)

Após a determinação da melhor condição de hidrólise, esta condição foi realizada em escala de bancada de 15L, com filtro em linha, sendo utilizado o aquecimento a gás, e temperatura controlada com termômetro de mercúrio. A quantidade de quirera de arroz preto IAC-600 foi calculada para a produção de 12L de hidrolisado a 15,5°P, levando em consideração o rendimento de 80% da massa de arroz preto em extrato.

A massa de 2,98kg de quirera de arroz preto IAC-600 moída duas vezes conforme descrito no item 4.2.1. foi adicionada na tina de 15L, onde colocou-se 11,7L de água a temperatura ambiente. Então, o pH foi ajustado para 5,5 com solução de ácido láctico a 85% (m/v) e tamponado com CaCl_2 na proporção de 50ppm. Foram adicionados 2,29g da enzima Brautec alfa TF[®] e 2,0g da enzima Maltezyz W[®], e a mistura foi aquecida até atingir a temperatura de 95°C, que permaneceu constante durante 30 minutos. Posteriormente a temperatura foi reduzida para 60°C, quando 1,33g da enzima Maltezyz W[®] foi adicionada, e iniciado o teste com solução de iodo 0,2N, a fim de verificar se a hidrólise do amido da quirera de arroz preto IAC-600 ocorreu. Sequencialmente, a cada cinco minutos o teste de iodo foi realizado e a hidrólise foi considerada finalizada, quando a ausência da cor roxo-azulada indicou que o amido foi hidrolisado (Figura 4).

Figura 4. Placa de Petri: da esquerda para direita tem-se a foto da solução de iodo 0,2N adicionada ao hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 que não apresenta cor roxo-azulada (teste do iodo negativo), e da solução de iodo 0,2N com sua cor original.

Com o objetivo de aumentar o volume do hidrolisado, o preparo foi reproduzido nas mesmas condições em escala piloto de 125L. A quantidade de quirera de arroz preto IAC-600 foi calculada para a produção de 112L de hidrolisado a 15,5°P, levando em consideração o rendimento de 80% da massa de arroz preto em extrato.

A massa de 25,6Kg de quirera de arroz preto IAC-600 moída duas vezes, foi adicionada a aproximadamente 100L de água a temperatura ambiente. A operação foi conduzida em tina (MEC BIER, São Paulo) com capacidade para 125L, provida de agitador (32rpm), aquecimento elétrico, controlador e indicador de temperatura digital (fixado no painel de controle), além de isolamento térmico. Após a adição da quirera de arroz preto IAC-600 na água, o pH foi ajustado para 5,5 com solução de ácido láctico a 85% (m/v) e tamponado com CaCl_2 na proporção de 50ppm, sendo adicionados 19,70g da enzima Brautec alfa TF[®] e 17,15g da enzima Maltezyn W[®], e o aquecimento elétrico da tina foi ligado até atingir a temperatura de 95°C que foi mantida constante durante 30 minutos.

Posteriormente a temperatura foi reduzida para 60°C quando 11,44g da enzima Maltezyn W[®] foi adicionada, e iniciado o teste com solução de iodo 0,2N, a fim de verificar se a hidrólise do amido da quirera de arroz preto IAC-600 ocorreu. Sequencialmente, a cada dez minutos o teste de iodo foi realizado e a hidrólise foi considerada finalizada, quando a ausência da cor roxo-azulada indicou que o amido foi hidrolisado.

4.2.2.2. Obtenção do mosto filtrado de malte de cevada

A quantidade de malte de cevada foi calculada para a produção de 18L de mosto a 16,5°P, levando em consideração o rendimento de 75% da massa de malte em extrato.

A massa de 4,48kg de malte moído duas vezes conforme descrito no item 4.2.1, foi adicionada a 12L de água a temperatura ambiente. A operação foi conduzida em tina com volume de 15L, com filtro em linha, sendo utilizado o aquecimento a gás, com temperatura controlada com termômetro de mercúrio. Após a adição do malte de cevada na água, o pH inicial foi ajustado para 5,4 com solução de ácido láctico a 85% (m/v) e tamponado com CaCl_2 na proporção de 1,26g/kg do malte. O aquecimento a gás foi ligado até atingir a temperatura de 65°C, que permaneceu constante durante no mínimo 40 minutos de mosturação.

Após 40 minutos de mosturação foi iniciado o teste com solução de iodo 0,2N a fim de verificar se a hidrólise do amido do malte de cevada foi obtida. Sequencialmente, a cada dez minutos o teste de iodo foi realizado e a hidrólise foi considerada finalizada, quando a ausência da cor roxo-azulada indicou que o amido foi hidrolisado.

Com o objetivo de aumentar a produção, a obtenção do mosto de cevada foi desenvolvido em escala piloto de 125L. A quantidade de malte de cevada foi calculada

para a produção de 112L de mosto a 16,5° P, levando em consideração o rendimento de 75% da massa de malte em extrato.

À massa de 29,8kg de malte de cevada moída duas vezes conforme descrito no item 4.2.1 foram adicionados 80L de água a temperatura ambiente. A operação foi conduzida em tina (MEC BIER, São Paulo) com capacidade para 125L, provida de agitador (32rpm), aquecimento elétrico, controlador e indicador de temperatura digital (fixado no painel de controle), além de isolamento térmico. Após a adição do malte de cevada na água, o pH inicial foi ajustado para 5,4 com solução de ácido láctico a 85% (m/v) e tamponado com CaCl_2 na proporção de 1,26g/kg do malte. O aquecimento elétrico da tina foi ligado até atingir a temperatura de 65°C que foi mantida constante durante no mínimo 40 minutos de mosturação.

Após 40 minutos de mosturação foi iniciado o teste com solução de iodo 0,2N a fim de verificar se a hidrólise do amido do malte de cevada foi obtida. Sequencialmente, a cada dez minutos o teste de iodo foi realizado e a hidrólise foi considerada finalizada, quando a ausência da cor roxo-azulada indicou que o amido foi hidrolisado.

As tinas utilizadas na mosturação (ou hidrólise) estão dispostas na Figura 5.

Figura 5. Equipamentos: da esquerda para direita tem-se a foto da tina de mosturação (ou hidrólise), da tina de filtração e da tina de resfriamento.

4.2.2.3. Filtração do hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 e do mosto de malte de cevada

Após o término da hidrólise do amido ocorrer foi realizada a filtração. A filtração do hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 e do mosto de malte de cevada foi realizada separadamente, ocorrendo na escala de bancada na tina de 15L com filtro em linha; e na escala piloto na tina de filtração com capacidade de 125L, contendo agitador, disco filtrante Pak Screens (fundo com ranhuras), bomba centrífuga e isolamento térmico.

Após a realização da filtração da água primária pela camada filtrante ou “torta” formada pelo bagaço da matéria-prima utilizada, a lavagem desta “torta” com água secundária à 83°C ocorreu. Foi utilizada água secundária suficiente para atingir a concentração em graus plato (°P) especificada nos itens 4.2.2.1 e 4.2.2.2.

O hidrolisado ou mosto filtrado obtido foi resfriado até 30°C para posterior inoculação.

4.3. Microrganismo

As células da levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas neste trabalho são da marca Mauri, comercializadas como fermento biológico seco instantâneo. Foi gentilmente doada pela *Pernod Ricard* e armazenada a 4°C.

Foram adicionados 40g de levedura liofilizada/hL de meio fermentativo (hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 ou mosto filtrado de malte de cevada) na temperatura de 30°C, obtendo a concentração de 0,4g peso seco/L de meio fermentativo.

4.3.1. Pré-tratamento do microrganismo

A levedura foi previamente diluída na proporção de 1g de levedura/10mL de água a temperatura ambiente. O inóculo foi aquecido a 40°C por uma hora, com agitação constante, realizada em aparelho mosturador LB Eletronic Mash Machine da marca Lochner (Labor + Teknik, Alemanha). A levedura, pré-tratada ou não, foi utilizada para conduzir a fermentação em escala de bancada de 15L. Os resultados expressos em produtividade de etanol foram analisados estatisticamente.

4.4. Fermentação

4.4.1. Fermentação em escala de bancada de 15L

As fermentações dos hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600 e dos mostos filtrados de malte de cevada foram realizadas separadamente, e em duas repetições.

O meio fermentativo a 30°C foi adicionado ao galão de vidro de 20L e inoculado. A inoculação foi realizada pelo acréscimo da levedura pré-tratada ou não a 40°C por uma hora, como descrito no item 4.3.1, sendo avaliada a produtividade volumétrica em etanol destas fermentações.

De acordo com o volume do hidrolisado filtrado, foi realizada a adição da levedura fermentativa *Saccharomyces cerevisiae*, obtendo a concentração final de 0,4g de peso seco/L de meio fermentativo.

Apenas nas fermentações dos hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600 foi utilizada a enzima Panzyn GA[®] (amiloglicosidase) na concentração de 10g da enzima/hL de meio fermentativo (concentração máxima sugerida pela Prozyn), que foi adicionada após a inoculação com levedura pré-tratada ou não.

As fermentações foram realizadas a temperatura ambiente, sendo a temperatura do fermentado de aproximadamente 30°C durante toda a fermentação.

O fermentado das matérias-primas utilizadas foi delevedurado separadamente em centrífuga Beckman J6 HC (Estados Unidos) a 4000xg por 15 minutos, e posteriormente destilado em alambique de 20L.

4.4.2. Fermentação em escala piloto de 125L

A fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 e do mosto filtrado de malte de cevada foi realizada separadamente.

Após a transferência do meio fermentativo para a tina de fermentação de 125L, ele foi resfriado a 30°C e inoculado.

A inoculação foi realizada pelo acréscimo da levedura sem o pré-tratamento descrito no item 4.3.1.

De acordo com o volume do meio fermentativo, foi realizada a adição da levedura fermentativa *Saccharomyces cerevisiae*, obtendo a concentração final de 0,4g de peso seco/L de meio fermentativo.

Apenas na fermentação do hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 foi utilizada a enzima Panzyn GA[®] (amiloglicosidase) na concentração de 10g da enzima/hL de meio fermentativo, que foi adicionada após a inoculação com levedura sem pré-tratamento.

As fermentações foram conduzidas a temperatura ambiente em tina de fermentação de 125L provida de controlador e indicador digital de temperatura, manômetro analógico para indicação da pressão interna (Figura 6). A temperatura do fermentado foi de aproximadamente 30°C durante toda a fermentação.

Figura 6. Tina de fermentação de 125L.

O fermentado das matérias-primas utilizadas foi delevedurado separadamente por precipitação através da redução da temperatura da tina de fermentação para 9°C, por 12 horas, para posterior destilação em alambique de 160L.

4.5. Destilação

A técnica de destilação que foi utilizada nos experimentos foi a dupla destilação, baseada na metodologia utilizada para a produção de uísque (PIGGOTT; CONNER 2003).

Na primeira destilação foi realizado o esgotamento de todo o etanol do vinho, sem cortes, até que o destilado na saída do alambique apresentasse 21°GL de etanol, sendo chamado de *low wines* (PIGGOTT; CONNER, 2003b). Na segunda destilação, o ponto de corte no início e no fim da coleta do destilado é crítico para a qualidade do produto, e pode ser alterado de uma destilaria para outra. O *low wines* é destilado e procede-se a separação das frações “cabeça”, “coração” ou uísque (destilado recuperado de 75 a 60°GL) e “cauda”. A graduação alcoólica final do “coração” ou uísque normalmente deve estar entre 65 e 75°GL, dependendo da destilaria (PIGGOTT; CONNER, 2003b).

A mistura das frações “cabeça” e “cauda”, obtidos na segunda destilação, a um novo *low wines* que será posteriormente destilado pode ser realizada para aumentar o volume e a graduação alcoólica do mesmo (PIGGOTT; CONNER, 2003b), proporcionando o aumento do volume final do “coração” ou uísque obtido nesta nova destilação. Neste trabalho estas frações foram descartadas.

No processo de destilação do malte de cevada, o “coração” ou uísque foi inicialmente coletado a partir de 75°GL, e quando o volume total atingiu 63°GL foi realizado o corte desta fração.

No processo de destilação da quirera de arroz preto IAC-600, o “coração” ou uísque foi inicialmente coletado a partir de 75°GL, e quando o volume total atingiu 54°GL foi realizado o corte desta fração.

As destilações em escala de bancada, dos fermentados de quirera de arroz preto IAC-600 e dos fermentados de malte de cevada, foram realizadas em alambique simples de cobre com alonga e condensador de cobre. O sistema de aquecimento a gás foi utilizado. O alambique de cobre de 20L encontra-se na Figura 7.

Figura 7. Alambique de cobre de 20L.

A destilação em escala piloto foi realizada em alambique simples de cobre com alonga e condensador de cobre. O sistema de aquecimento a lenha aquece o alambique indiretamente, o que proporciona um processo de destilação padronizado em relação à velocidade de aquecimento e de temperatura e pressão dos vapores formados no processo. Na Figura 8 está o alambique de cobre de 160L, e na Figura 9 é representado um esquema deste alambique.

Figura 8. Alambique de cobre de 160L.

Durante a destilação o destilado foi monitorado quanto ao teor alcoólico com o auxílio de alcoômetro Gay-Lussac.

Figura 9. Esquema do alambique utilizado para as destilações (adaptado de ALCARDE et al., 2009).

O destilado alcoólico simples de malte de cevada obtido em escala piloto no alambique de 160L foi envelhecido aceleradamente, enquanto o destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não foi envelhecido.

4.6. Envelhecimento do destilado alcoólico simples de malte de cevada obtido em alambique de 160L

O destilado alcoólico simples de malte de cevada (“coração” ou uísque) a 63°GL obtido em escala piloto no alambique de 160L foi diluído para 62,5°GL e envelhecido aceleradamente. O volume de 4320mL deste destilado foi adicionado a 1680mL de água deionizada em erlenmeyer de 6L. Portanto, obteve-se o volume total de 6L de destilado alcoólico simples de malte de cevada a 45°GL. Foram adicionados 90g de raspas de carvalho europeu *Nobile intense* tostadas, para encontrar uma razão padrão de 15g de raspas tostadas por litro de destilado alcoólico simples de malte de cevada a 45°GL. A mistura foi colocada em banho-maria a 50°C durante nove dias. O oxigênio puro foi insuflado diariamente por 15 minutos, contados após a obtenção da saturação de 100% do meio (adaptado de ZHIMLICH; EFFLER, 2003).

4.7. Armazenamento do destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 e armazenamento do uísque de malte de cevada

O destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 (“coração” ou uísque), a 54°GL, obtido em escala piloto no alambique de 160L foi armazenado em garrafas de vidro de 750mL e não foi envelhecido.

O destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido por nove dias foi filtrado em papel de filtro com porosidade de 5µm, destinados a reter quaisquer partículas remanescentes que podem ser percebidas visualmente, e posteriormente envasadas a 42°GL em garrafas de vidro de 750mL.

4.8. Obtenção dos uísques cortados a 40°GL

O uísque cortado foi produzido através da mistura de 70% e 50% do destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido por nove dias, com graduação alcoólica de 42°GL, com 30% e 50% do destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido, com graduação alcoólica de 54°GL, respectivamente, com adição de quantidade necessária de água deionizada para obter o teor alcoólico final de 40°GL. Após o preparo dos uísques, estes foram armazenados em garrafas de vidro de 750mL.

4.9. Engarraamento dos uísques cortados a 40°GL

Os uísques cortados a 40°GL produzidos no item 4.8 foram resfriados a 4°C, e posteriormente filtrados em papel de filtro com porosidade de 5µm, destinados a reter quaisquer partículas remanescentes que podem ser percebidas visualmente. As garrafas de vidro de 750mL foram lavadas previamente com jato de água e deixadas secar naturalmente na posição invertida.

Os uísques cortados filtrados foram armazenados em garrafas de vidro de 750mL e utilizados para realização da análise sensorial na Microcervejaria da EEL-USP, da análise descritiva quantitativa na *Pernod Ricard* e das análises químicas no LABTOX do ITEP.

4.10. Métodos analíticos

4.10.1. Determinação de pH

Os valores de pH foram determinados por potenciometria, em um aparelho da marca Marconi (modelo MA 522 P, São Paulo), com correção de temperatura para 20°C.

A quirera de arroz preto IAC-600 e o malte de cevada foram moídos duas vezes e foi adicionado água para determinação do pH, na proporção utilizada nas hidrólises destas matérias-primas.

4.10.2. Determinação da umidade

A umidade foi determinada por meio da secagem por infravermelho da amostra de quirera de arroz preto IAC-600 ou de malte de cevada não moídos, realizada em balança de umidade DENVER INSTRUMENT IR-30 a 100°C, até massa constante, de acordo com European brewery convention (2000).

4.10.3. Determinação do teor de amido total da quirera de arroz preto IAC-600

Para determinação do teor de amido total foram utilizados 10mg de quirera de arroz preto IAC-600. Para a retirada de açúcares, pigmentos, polifenóis e outras substâncias solúveis, foram realizadas quatro extrações com 500µL de etanol 80% a 80°C por 20min, totalizando 2mL de extrato etanólico. Após remoção da fração etanólica, o precipitado foi seco a temperatura ambiente durante a noite, até a completa evaporação do etanol. Em seguida foram adicionados 500µL (120U/mL) de α -amilase (EC 3.2.1.1) termoestável de *Bacillus licheniformis* (cód. E-ANAAM, MEGAZYME, Irlanda), diluída em tampão

MOPS 10mM pH 6,5. A amostra foi incubada a 75°C por 30min. A amostra foi resfriada até 50°C, e então adicionou-se 500µL de uma solução contendo 30U/mL de amiloglicosidase (EC 3.2.1.3) de *Aspergillus niger* (cód. E-AMGPU, MEGAZYME, Irlanda) em tampão acetato de sódio 100mM pH 4,5. A amostra foi incubada a 50°C por 30min. Após as incubações descritas acima, foram acrescentados 100µL de ácido perclórico 0,8M, objetivando parar a reação e precipitar proteínas. Após a centrifugação (2 min a 10.000g), procedeu-se à dosagem de amido nos extratos, através de quantificação de glicose liberada no processo de hidrólise. Para tal foram retiradas alíquotas de 20µL de extrato, às quais foram adicionados 300µL do Reagente Glicose PAP Liquiform (CERNTERLAB, Brasil), contendo as enzimas glicose-oxidase (~ 11000U/mL) e peroxidase (~ 700U/mL), 290µmol/L de 4-aminoantipirina e 50mM de fenol pH 7,5. Neste sistema, a glicose oxidase catalisa a oxidação da glicose. O peróxido de hidrogênio formado na reação reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma antipirilquinonimina vermelha, cuja intensidade de cor é proporcional ao teor de glicose na amostra. Após incubação por 15min a 37°C, o teor de glicose foi determinado em leitor de microplacas em comprimento de onda 490nm. Para realização da curva padrão foi utilizada solução de glicose (SIGMA), nas concentrações de 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10µg/mL (AMARAL et al., 2007).

4.10.4. Análises físico-químicas da água

Foram realizadas análises físico-químicas na água para determinação do pH, cor, turbidez, teor de cloro, cloro residual, cobre, ferro, magnésio, manganês, nitrogênio nitrato, sulfato, zinco e dureza, de acordo com Instituto Adolf Lutz (2008).

4.10.5. Determinação da densidade

A densidade de todas as amostras foi determinada em equipamento analisador de bebidas Anton Paar (modelo Beer Analyser 2, Áustria) e o resultado expresso em g/mL.

4.10.6. Determinação do extrato aparente, original e real

Foram determinados em todas as amostras o teor de extrato aparente (°P), original e extrato real (% m/m), por meio de analisador de bebidas Anton Paar (modelo Beer Analyzer 2, Áustria).

4.10.7. Identificação e determinação dos teores dos carboidratos

Todas as amostras foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para a identificação do teor dos açúcares glicose, frutose, maltose e maltotriose em equipamento SHIMADZU (Kyoto, Japão), nas seguintes condições: coluna BIO-RAD, Aminex HPX – 87H (300 X 7,8mm); temperatura da coluna, 45°C; detector de índice de refração; eluente H₂SO₄ 0,005M desgaseificado; fluxo de 0,6mL/min e volume de amostra injetada de 20µL. Antes da determinação por CLAE, as amostras foram centrifugadas a 2300xg por 20 minutos em centrífuga Cientec (modelo CT 5000D, São Paulo), e os sobrenadantes foram devidamente diluídos com água deionizada e passados por filtros 0,45µm (Millipore) e sep-pak C18 cartridge (Waters Associates). Foram feitas soluções padrões de glicose, frutose, maltose e maltotriose, nas concentrações de 0,2; 1; 2; 3; 4 e 5g/L, para cada um dos açúcares, e posteriormente injetadas no CLAE para a determinação dos picos cromatográficos respectivos.

4.10.8. Determinação do teor de polifenóis

O teor total de polifenóis foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON et al., 1999) em todas as amostras analisadas. Após três minutos de agitação de 0,5mL de amostra de uísque e 0,5mL de solução de Folin-Ciocalteu, 0,5mL de solução 10% de Na₂CO₃ foi adicionado. Após uma hora, a absorbância foi determinada a 700nm. A curva de calibração foi realizada utilizando ácido gálico como padrão, e o teor total de polifenóis da amostra foi expresso como equivalente em ácido gálico (mg/L).

4.10.9. Parâmetros da hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 e da mosturação de malte de cevada

A massa de extrato recuperado foi calculada usando a Equação 1:

$$Massa_{ER} = \frac{Teor_{AC} \times V_{MOSTO}}{100} \quad (1)$$

Na qual:

$Massa_{ER}$ = massa de extrato recuperado no mosto (g);

$Teor_{AC}$ = teor de extrato (% g/L);

V_{mosto} = volume do mosto (L).

O rendimento da mosturação foi calculada pela Equação 2:

$$Rm = \frac{M_{ER}}{M_{malte}} \times 100 \quad (2)$$

Na qual:

R_m = rendimento da mosturação (%);

M_{ER} = massa de extrato recuperado no mosto (g);

M_{malte} = massa de extrato do malte (g).

A eficiência da mosturação foi calculada pela Equação 3:

$$Em = \frac{V_{MOSTO} \times C_{ER}}{Rm \times M_{malte}} \times 100 \quad (3)$$

Na qual:

V_{mosto} = volume do mosto (L);

C_{ER} = concentração do extrato recuperado no mosto (g/L);

R_m = rendimento da mosturação (%);

M_{malte} = massa de malte (g).

As Equações 1, 2 e 3 também foram utilizadas para calcular a massa de extrato recuperado, o rendimento e a eficiência de hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600, respectivamente.

4.10.10. Métodos analíticos das fermentações

Durante todo o processo das fermentações dos hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600 e dos mostos filtrados de malte de cevada, foram retiradas amostras periódicas (a cada 6 horas) de 30mL de fermentado em tubos Falcon. As amostras foram desgaseificadas pela agitação vigorosa dos tubos citados durante 1min em aparelho agitador de tubos PHOENIX (modelo AP 56, São Paulo). O sobrenadante obtido após a centrifugação do fermentado a 2300xg por 20min em centrífuga Cientec (modelo CT 5000D, São Paulo) foi utilizado para determinar o teor de etanol (°GL), o extrato original (%m/m), o extrato real (%m/m), o extrato aparente (°P), a densidade e o pH do fermentado. Para determinação das concentrações de glicose, frutose, maltose e maltotriose foram utilizadas 10 mL de amostra desgaseificada. As metodologias das análises estão descritas acima, nos itens específicos.

4.10.10.1. Determinação da concentração celular

No início e a cada 6 horas de fermentação foi realizada a contagem da concentração de células em suspensão em câmara de Neubauer, e o resultado foi expresso em número de células/mL. A determinação da viabilidade celular foi realizada pelo método internacional de coloração com azul de metileno, segundo ASBC (1996).

4.10.10.2. Parâmetros fermentativos

Durante as fermentações dos hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600 e dos mostos filtrados de malte de cevada, foram medidos o teor de etanol (°GL), o extrato original (%m/m), o extrato real (%m/m) e o extrato aparente (°P), por meio do equipamento analisador de bebidas Anton Paar (modelo Beer Analyzer 2, Áustria).

Ao final da fermentação, o rendimento foi calculado pela Equação 4.

$$Y_{p/s} = \frac{m_{Et}}{m_{Ac}} \quad (4)$$

Na qual:

$Y_{p/s}$ = Rendimento do etanol produzido em relação aos açúcares fermentescíveis consumidos (g/g);

m_{Et} = massa de etanol produzido (g);

m_{Ac} = massa de açúcares fermentescíveis consumidos (g)

A eficiência da fermentação foi obtida por meio da Equação 5:

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{Y_{p/s \text{ obtido}}}{Y_{p/s \text{ teórico}}} \times 100 \quad (5)$$

O cálculo da produtividade volumétrica em etanol é feito através da Equação 6:

$$Q = \frac{TE_f - TE_i}{t} \quad (6)$$

Q = Produtividade volumétrica em etanol (g/L.h)

TE_f = Teor de etanol final (g/L)

TE_i = Teor de etanol inicial (g/L)

t = tempo (h)

4.10.11. Caracterização química dos destilados alcoólicos simples de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada e dos uísques obtidos

Todas as amostras analisadas foram realizadas no LABTOX (Laboratório de Análises de Resíduos de Agrotóxicos e de Bebidas Alcoólicas) do ITEP (Instituto de Tecnologia de Pernambuco), em Recife (PE) de acordo com as técnicas preconizadas na legislação (BRASIL, 2005).

Foram realizadas as seguintes análises: acidez volátil expresso em ácido acético (mg/100mL de álcool anidro); álcool metílico (mg/100mL de álcool anidro); alcoóis superiores expressos pelo somatório dos teores dos alcoóis isobutílico, isoamílicos e *n*-propílico (mg/100mL de álcool anidro); aldeídos expressos em acetaldeído (mg/100mL de álcool anidro); chumbo (mg/L); cobre (mg/L); ésteres expressos em acetato de etila (mg/100mL de álcool anidro); furfural (mg/100mL de álcool anidro); e somatório dos congêneres, seguindo a metodologia oficial MAPA (BRASIL, 2005).

A análise dos compostos voláteis (congêneres): álcool metílico; alcoóis superiores expressos pelo somatório dos teores dos alcoóis isobutílico, isoamílicos e *n*-propílico; aldeídos expressos em acetaldeído; ésteres expressos em acetato de etila; e furfural foi determinado nas amostras por cromatografia gasosa (CG) com detector de ionização de chama (FID). O cromatógrafo Finigan, modelo trace CG ultra, tem injetor automático (modelo AS 3000) que introduz um volume de 1,0µL por amostra e foi utilizado com uma coluna capilar carbowax 20M (60m × 0,25mm × 1,0µm). A temperatura da coluna iniciou a 60°C, sendo elevada até 200°C com taxa de aquecimento de 10°C/min. A temperatura do injetor foi mantida a 230°C e detector, 250°C. O tempo total da análise foi de 16min. As amostras foram injetadas com padrão interno, 1-pentanol. A quantificação foi baseada em curvas de calibração (preparadas em soluções analíticas de etanol 40%v/v). Os resultados foram expressos como mg/100mL de álcool anidro.

A acidez volátil foi realizada em destilador eletrônico marca Gibertini (formado por uma unidade geradora de vapor modelo DEE e outra de destilação modelo VADE 3, Itália), com titulador da Mettler Toledo (modelo DL22), desenvolvido para atender metodologia oficial, com titulação das amostras destiladas com NaOH (0,02M), usando fenolftaleína como indicador. Os resultados foram expressos como mg/100mL de álcool anidro.

As determinações de cobre e chumbo foram realizadas em espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, marca Thermo (modelo SOLAR GFS-97), com lâmpada de deutério. Amostras de uísque foram introduzidas diretamente. Quantificação

foi baseada em curvas de calibração preparadas em etanol a 40% v/v. Os resultados foram expressos em mg/L.

4.11. Análise sensorial dos uísques

A análise sensorial dos uísques foi realizada na EEL-USP, em cabines isoladas, localizadas na Microcervejaria da EEL-USP, com luz branca e ausência de interferentes como odores e ruídos.

Para o teste de aceitação foi utilizada a escala hedônica estruturada de nove pontos, com notas que variam de desgostei muitíssimo (1) até gostei muitíssimo (9) (DUTCOSKY, 1996), de acordo com formulário apresentado na Figura 10, que possui também o teste de intenção de compra com escala de cinco pontos.

As amostras analisadas com 40°GL de teor alcoólico foram apresentadas sem gelo, de forma monádica e sequencial, codificadas com algarismos de três dígitos aleatorizados.

Cento e vinte e cinco provadores (voluntários não treinados, universitários, de ambos os sexos, maiores de 18 anos, selecionados especificamente para participar do teste), receberam aproximadamente 15mL de cada uma das amostras de uísque a 40°GL, apresentadas em copos de vidro transparente de 60mL, série Olé NF: 2304, codificados com números de três dígitos e tampados com vidro de relógio que foi retirado no momento da análise. Foram analisados quatro uísques a 40°GL, um uísque cortado com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido; um uísque cortado com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido, um uísque puro malte envelhecido por 12 anos e um uísque *bourbon*. Foi utilizado um copo de água, pão francês, caneta esferográfica azul e fichas para avaliação.

TESTE DE PREFERÊNCIA						
Nome: _____			Idade: _____			
<p>Instruções para o teste:</p> <p>Você está recebendo quatro amostras codificadas. Analise uma por vez, da esquerda para a direita, quanto à cor, aroma, sabor e aceitação global. Coloque a nota de acordo com a escala abaixo. Beba um pouco de água e coma pão de sal entre a degustação de uma amostra e outra.</p>						
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	COR	AROMA	SABOR	ACEITAÇÃO GLOBAL
<p>Agora você vai avaliar a sua intenção de compra com base na tabela abaixo para cada amostra codificada.</p>						
5	Certamente compraria					
4	Provavelmente compraria					
3	Tenho dúvidas se compraria					
2	Provavelmente não compraria					
1	Certamente não compraria					
		AMOSTRA	NOTA DA INTENÇÃO DE COMPRA			

Figura 10. Formulário utilizado no Teste de Aceitação.

4.11.1. Análise descritiva quantitativa dos uísques

A ADQ[®], de acordo com a metodologia descrita por Stone et al. (1974), foi realizada com o uísque cortado com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido e com o uísque cortado com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido.

Todas as amostras analisadas continham 20°GL de teor alcoólico e foram apresentadas sem gelo, de forma monádica, codificadas com algarismos de três dígitos, e oferecidas aos provadores treinados em copos de vidro.

Os dez julgadores treinados, da *Pernod Ricard*, localizada em Resende/RJ, prepararam aproximadamente 15mL de amostra de cada uísque e realizaram a ADQ[®].

4.12. Análise estatística

Os dados foram apresentados como média e desvio padrão e dispostos em tabelas e gráficos.

Para verificar a influência dos fatores: tempo, enzima e concentração das enzimas na hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 em escala de bancada de 500mL, referente ao planejamento fatorial completo 2^3 com seis ensaios no ponto central, os resultados foram expressos em extrato original (°P), e para definir o modelo de regressão que melhor se ajusta aos dados foi utilizada análise de variância (ANOVA), com o objetivo de determinar a melhor condição de hidrólise para a realização em escala de bancada de 15L.

Para verificar a influência do fator pré-tratamento da levedura, descrito no item 4.5.1, nos resultados da produtividade volumétrica em etanol das fermentações realizadas em escala de bancada de 15L, no hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 e no mosto filtrado de malte de cevada, com objetivo de determinar a utilização ou não deste pré-tratamento na realização da fermentação em escala piloto de 125L foi utilizado o teste *t-Student* para amostras independentes.

Para comparar os parâmetros (cor, aroma, sabor e aceitação geral), os resultados obtidos no teste de aceitação baseado na escala hedônica de nove pontos, dos quatro uísques analisados utilizado-se o teste Friedman e a tabela de Newell e MacFarlane (1987).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa STATISTICA versão 8.0., sendo todos os testes bicaudais e o nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização das matérias-primas para produção dos uísques cortados

5.1.1. Água

De acordo com o 7º parágrafo do artigo 13 do Decreto brasileiro nº 6871 de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de junho de 1994 (BRASIL, 2009), a água destinada à produção de bebida deverá atender ao padrão oficial de potabilidade, que é determinado pela Portaria do Ministério da Saúde (MS) nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 (Brasil, 2011c).

Foram realizadas análises físico-químicas de acordo com o Instituto Adolf Lutz (2008), e os resultados estão na Tabela 6.

Tabela 6. Resultados das análises físico-químicas da água retirada do poço artesiano localizado no Campus I da Escola de Engenharia de Lorena/USP.

Parâmetros físicos e químicos	Unidade	VMP*	Resultado
Cor aparente	mg Pt-Co/L	15	8,0
Turbidez	NTU**	5,0	2,30
Cloro residual livre	mg cloro/ L	2,0	< 0,01
Cloretos	mg cloreto/L	250	1,3
Cobre	mg cobre/L	2,0	0,030
Dureza total	mg CaCO ₃ /L	500	30
Ferro	mg ferro/L	0,3	0,179
Magnésio	mg magnésio/L	-	0,914
Manganês	mg manganês/L	0,1	< 0,003
Nitrogênio nitrato	mg nitrogênio/L	10	0,01
Sulfato	mg sulfato/L	250	< 1
Zinco	mg zinco/L	5,0	5,3

VMP*: valor máximo permitido de acordo com a Portaria MS nº 2914, de 12 de dezembro de 2011 (Brasil, 2011c)

NTU**: *nephelometric turbidity unit*

Observa-se na Tabela 6, que com exceção do zinco, todos os parâmetros avaliados estão de acordo com os valores recomendados pela legislação. Porém o teor do zinco estabelecido no Anexo X da Portaria MS nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 (Brasil, 2011c), está discriminado na Tabela de padrão organoléptico de potabilidade, o que não impede o uso da água para produção de uísque.

De acordo com Russel, Stewart e Bamforth (2003), a água usada para fazer o mosto contribui para a qualidade da bebida, os sais dissolvidos na água interferem no sabor do mosto e influenciam o pH do processo e do produto final, além de fornecer micronutrientes essenciais para o crescimento da levedura. O magnésio é um elemento químico requerido pela levedura, em quantidades mínimas e está disponível com o teor de 0,914mg/L. A presença de nitrogênio nitrato, geralmente indica contaminação de esgoto, o que não ocorreu na água utilizada no presente trabalho (RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003).

O pH da água foi de 6,71 e está dentro da faixa de 6,0 a 9,5 sugerida pela legislação.

A água utilizada possui baixo teor de sulfatos (< 1mg sulfato/L), sendo importante para não reduzir o pH do mosto (RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003).

De acordo com Organização Mundial da Saúde (2011), água mole tem uma dureza inferior a 100mg/L, como a água disponível para a produção de uísque na Microcervejaria da EEL-USP de Lorena. Como a água é mole, ela não provoca incrustações em superfícies de aquecimento (RUSSEL; STEWART; BAMFORTH, 2003), tais como nas tinas de aço inox de mosturação, filtração e fermentação, utilizadas na escala piloto de 125L na EEL-USP.

5.1.2. Determinação de umidade e pH da quirera de arroz preto IAC-600 e do malte de cevada

Os resultados das análises de umidade e pH da quirera de arroz preto IAC-600 e do malte de cevada são mostrados na Tabela 7.

A umidade da quirera de arroz preto IAC-600 foi de 10,68%, sendo próximo ao citado por Briggs et al. (2004) que é de 11%, e abaixo do citado por Akoh et al. (2008) que cita umidade em torno de 14%.

O resultado da umidade do malte de 5,65% está de acordo com a faixa citada por Almeida e Silva (2005) de 4 a 6%.

O pH da quirera de arroz preto IAC-600 de 5,64 está acima do pH 5,0 descrito por Briggs et al. (2004), enquanto o pH do malte de cevada de 5,43 está próximo da faixa de 5,0 a 5,3 citada por Taylor (1990).

Tabela 7. Valores experimentais da análise da quirera de arroz preto IAC-600 e do malte de cevada.

Análise	Quirera de arroz preto IAC-600	Malte de cevada
	Média ± desvio padrão	Média ± desvio padrão
Umidade (%)	10,68 ± 0,02	5,65 ± 0,03
pH	5,64 ± 0,03	5,43 ± 0,03

Valores provenientes de três repetições expressos como média e desvio padrão

5.1.3. Determinação do teor de amido total da quirera de arroz preto IAC-600

Os resultados da determinação de amido total estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8. Valores experimentais dos teores de amido total em base seca e úmida da quirera de arroz preto IAC-600.

Média do teor de amido total ± desvio padrão (%)	
Base úmida	76,95 ± 1,89
Base seca	86,15 ± 2,11

Valores provenientes de três repetições expressos como média e desvio padrão

O teor de amido na quirera de arroz preto IAC-600 de 86,15% encontra-se próximo do valor citado por Akoh et al. (2008), em torno de 80%.

O resultado desta determinação foi utilizado para o cálculo da quantidade da enzima Brautec alfa TF[®], pois de acordo com o fabricante, a relação da quantidade da enzima (em mg) é diretamente proporcional à quantidade de amido presente na matéria prima a ser hidrolisada.

5.2. Obtenção do hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 em escala de bancada no mosturador de 500mL

Os resultados em triplicata dos experimentos de hidrólise realizados, de acordo com a matriz do planejamento fatorial completo 2³ com seis ensaios no ponto central, são

expressos em extrato original (°P) após 80 minutos (Tabela 9). Estes resultados foram analisados estatisticamente.

Tabela 9. Resultados dos experimentos de hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600, da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 com seis ensaios no ponto central, expressos em extrato original (°P).

Ensaio	A*	B**	C***	Extrato original (°P)
1	- 1	- 1	- 1	13,5 13,4 13,6
2	+ 1	- 1	- 1	13,4 13,6 13,4
3	- 1	+ 1	- 1	13,4 13,4 13,5
4	+ 1	+ 1	- 1	14,1 14,0 13,8
5	- 1	- 1	+ 1	14,2 14,3 14,5
6	+ 1	- 1	+ 1	13,7 13,6 13,5
7	- 1	+ 1	+ 1	15,1 15,3 15,0
8	+ 1	+ 1	+ 1	14,2 14,0 14,3
9	0	+ 1	0	14,9
10	0	+ 1	0	14,8
11	0	+ 1	0	14,8
12	0	- 1	0	14,8
13	0	- 1	0	14,7
14	0	- 1	0	14,7

A* (representa a variável tempo em níveis codificados):

- 1 (30 minutos)

0 (45 minutos)

+1 (60 minutos)

B** (representa a variável adição da enzima ProteMax N600® ou Maltezy W® em níveis codificados):

- 1 (80mg de ProteMax N600®/100g de matéria prima em base seca)

+ 1 (500mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca)

C*** (representa a variável concentração das enzimas Brautec alfa TF® e Maltezy W em níveis codificados):

- 1 (500mg Brautec alfa TF®/kg de amido em base seca e 250mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca)

0 (750mg Brautec alfa TF®/kg de amido em base seca e 500mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca)

+1 (1000mg Brautec alfa TF®/kg de amido em base seca e 750mg de Maltezy W®/kg de matéria prima em base seca)

5.3. Análise estatística dos resultados expressos em extrato original (°P), dos experimentos de hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 em escala de bancada de 500mL

Para verificar a influência dos fatores estudados na hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 e determinar a melhor condição em relação ao resultado expresso em extrato original (°P), os dados foram analisados estatisticamente.

Neste estudo, utilizou-se um planejamento fatorial completo 2^3 com seis ensaios no ponto central, sendo todos os experimentos de hidrólise realizados em triplicata.

De acordo com Moldavsky e Cohen (1996), o modelo pode ser validado quando os critérios de análise de variância apresentar $p < 0,01$ e o coeficiente de correlação $R^2 > 0,9$, condições atendidas no modelo aqui obtido. Neste caso, a análise de variância foi significativa ($p < 0,001$) e o coeficiente de correlação ajustado foi 0,93.

Os valores apresentados na Tabela 10 demonstram as interações de primeira, segunda e terceira ordem das variáveis A, B e C analisadas no planejamento fatorial 2^3 .

Tabela 10. Valores das interações de primeira, segunda e terceira ordem das variáveis A, B e C analisadas no planejamento fatorial 2^3 .

Fatores avaliados	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Média dos quadrados	F	p
Modelo	7,13	7	1,02	50,87	< 0,0001
A	0,54	1	0,54	26,98	< 0,0001
B	1,08	1	1,08	54,11	< 0,0001
C	3,08	1	3,08	153,96	< 0,0001
AB	0,04	1	0,04	2,08	0,1638
AC	1,81	1	1,81	90,68	< 0,0001
BC	0,33	1	0,33	16,32	0,0006
ABC	0,24	1	0,24	11,99	0,0023

A representa a variável tempo em níveis codificados

B representa a variável adição da enzima ProteMax N600® ou Maltezym W® em níveis codificados

C representa a variável concentração das enzimas Brautec alfa TF® e Maltezym W® em níveis codificados

AB, AC e BC: representam a interação de segunda ordem

ABC: representa a interação de terceira ordem

Pode-se verificar com os valores apresentados na Tabela 10 que com exceção da interação de segunda ordem AB e BC, todas as outras interações de primeira e segunda ordem apresentaram $p < 0,001$. O valor de R^2 ajustado demonstra que o modelo explica 93% da variabilidade dos valores experimentais.

Com base nos valores experimentais de hidrólise apresentados na Tabela 9, a equação do modelo linear proposto para descrever o extrato original em °P (Equação 7), para utilização da variável qualitativa ProteMax N600® ($B = -1$), na região em estudo foi:

$$Y_1 = 13,76 - 0,19167 t + 0,24167 C - 0,17500 t.C \quad (7)$$

Onde:

Y_1 é o extrato original em °P.

t é o valor codificado da variável tempo.

C é o valor codificado da variável concentração das enzimas Brautec alfa TF[®] e Maltezy W[®].

Na Figura 11 pode ser verificada a superfície de resposta referente a este modelo.

Figura 11. Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa extrato original (°P) com a utilização da enzima ProteMax N600[®] ($B = -1$), sendo A a variável tempo em níveis codificados, e C a variável concentração das enzimas Brautec alfa TF[®] e Maltezy W[®] em níveis codificados.

Com base nos valores experimentais de hidrólise apresentados na Tabela 9, a equação do modelo linear proposto para descrever o extrato original em °P (Equação 8), para utilização da variável qualitativa Maltezy W[®] ($B = +1$), na região em estudo foi:

$$Y_2 = 14,14 - 0,10833 t + 0,47500 C - 0,37500 t.C \quad (8)$$

Onde:

Y_2 é o extrato original em °P.

t é o valor codificado da variável tempo.

C é o valor codificado da variável concentração das enzimas Brautec alfa TF[®] e Maltezy W[®].

Na Figura 12 pode ser verificada a superfície de resposta referente a este modelo.

Figura 12. Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa extrato original (°P) com a utilização da enzima Maltezy W[®] (B = +1), sendo A a variável tempo em níveis codificados, e C a variável concentração das enzimas Brautec alfa TF[®] e Maltezy W[®] em níveis codificados.

Este modelo demonstra que a melhor condição do planejamento experimental, de acordo com a análise estatística, foi com a utilização da enzima Maltezy W[®] ao invés da enzima ProteMax N600[®] na segunda etapa do processo de hidrólise. Podemos verificar nas Figuras 11 e 12 que o extrato original (°P) apresentou média superior em relação ao uso da enzima Maltezy W[®] ao invés da enzima ProteMax N600[®], 15,1 e 14,3 respectivamente, nos níveis codificados -1 para a variável tempo (A) e + 1 para a variável concentração das

enzimas Brautec alfa TF[®] e Maltezy W (C). Portanto, de acordo com a análise estatística, a melhor condição foi a de 30 minutos de hidrólise a 95°C com 1000mg de Brautec alfa TF[®]/kg de amido em base seca e 750mg de Maltezy W[®]/kg de matéria prima em base seca, sendo posteriormente adicionada 500mg de Maltezy W[®]/kg de matéria prima em base seca quando a temperatura atingiu 60°C, permanecendo até a hidrólise do amido apresentar teste de iodo negativo, o que ocorreu após 50 minutos. Esta foi a melhor condição de hidrólise porque obteve os maiores valores de extrato original recuperado, apresentando média de $15,13 \pm 0,15^{\circ}\text{P}$.

O rendimento e a eficiência da melhor condição de hidrólise foram calculados pelo teor de açúcares extraídos da quirera de arroz preto IAC-600 e quantificados através do analisador de bebidas Anton Paar (modelo Beer Analyzer 2).

O rendimento calculado na melhor condição de hidrólise encontrado neste trabalho foi de 60,10% em base seca, e a eficiência foi de 75,10%.

Santos (2011) obteve a eficiência de mosturação de 73,71%, realizando experimentos na escala de bancada de 500mL, utilizando 45% de quirera de arroz preto IAC-600 com 55% de malte de cevada. O experimento iniciou com a colocação de água, quirera de arroz preto IAC-600 e 317mg de enzima Brautec alfa TF[®]/kg de amido em base seca, sendo o tempo total de hidrólise de 73 minutos, sendo posteriormente acrescentado na tina mais água e malte de cevada que permaneceu mais 150 minutos em mosturação para obter teste do iodo negativo.

Portanto, diante do exposto, como neste trabalho o rendimento de 60,10% e a eficiência de 75,10% foi obtido em apenas 80 minutos de hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600 utilizando somente as enzimas exógenas Brautec alfa TF[®] e Maltezy W[®], esta condição foi repetida na escala de bancada de 15L.

Como o objetivo geral do presente trabalho é produzir e analisar o uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido, e também o uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido, a operação de hidrólise foi inicialmente realizada em escala de bancada em tina de 15L, com filtro em linha e aquecida a gás, sendo a temperatura controlada com termômetro de mercúrio.

5.4. Obtenção do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 em escala de bancada de 15L

A melhor condição do planejamento experimental foi utilizada em escala de bancada de 15L. Nesta escala, após o término da hidrólise do amido realiza-se a filtração da água primária, pela camada filtrante ou “torta” (Figura 13) formada pelo bagaço de quirera de arroz preto IAC-600, sendo posteriormente realizada a lavagem desta “torta” com água secundária a 83°C. Desta forma obtém-se o hidrolisado filtrado (Figura 14).

Figura 13. Camada filtrante ou “torta” de bagaço de quirera de arroz preto IAC-600.

Figura 14. Hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600 no galão de vidro de 20 L.

Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes dos hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600 (L) e extratos originais (°P) para quirera de arroz preto IAC-600 (Tabela 11).

Tabela 11. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes (L) e dos extratos originais (°P) dos hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600.

Hidrolisado filtrado utilizado com levedura	Volume de hidrolisado filtrado (L)	Extrato original (°P)
Sem pré-tratamento	12,30 ± 0,10	14,9 ± 0,10
Pré-tratada	12,10 ± 0,10	14,52 ± 0,04

Valores provenientes de duas repetições expressos como média e desvio padrão

O hidrolisado filtrado, após resfriado até 30°C foi inoculado com levedura pré-tratada ou não a 40°C por uma hora, como descrito no item 4.3.1.

5.5. Fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 na escala de bancada de 15 L

As duas repetições da fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 realizadas em temperatura ambiente terminaram após 90 horas de fermentação, sendo a produtividade volumétrica em etanol calculada.

5.5.1. Produtividade volumétrica em etanol e rendimento no fermentado de hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 produzido em escala de bancada de 15L

Os valores experimentais da produtividade volumétrica em etanol e rendimento foram representados em função do tempo de fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, em escala de bancada de 15L, com levedura sem pré-tratamento (Figura 15) e com levedura pré-tratada (Figura 16).

Figura 15. Valores experimentais da produtividade volumétrica e rendimento em etanol, utilizando levedura sem pré-tratamento.

Figura 16. Valores experimentais da produtividade volumétrica e rendimento em etanol, utilizando levedura pré-tratada.

Foi realizada a análise estatística das médias das produtividades em etanol das fermentações realizadas em escala de bancada de 15L, no hidrolisado de quirera de arroz preto IAC-600, com levedura pré-tratada ou não a 40°C por uma hora, e não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$). Portanto, na realização das fermentações em escala piloto de 125L, a levedura não foi pré-tratada.

Cada fermentado de hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 produzido, foi delevedurado em centrífuga *Beckman J6 HC* (Estados Unidos) a 4000xg por 15min, e posteriormente destilado em alambique de bancada de 20L.

5.6. Destilação do fermentado de quirera de arroz preto IAC-600 em escala de bancada no alambique de 20L

Durante a destilação, o “coração” ou uísque foi inicialmente coletado em recipiente apropriado a partir de 75°GL e quando o volume total atingiu 54°GL foi realizado o corte da fração “coração” ou uísque. A Tabela 12 apresenta os resultados das destilações realizadas com o fermentado de hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 produzido em escala de bancada de 15L com levedura pré-tratada ou não a 40°C por uma hora, como descrito no item 4.3.1.

Tabela 12. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes e dos teores em etanol dos fermentados de hidrolisados filtrados de quirera de arroz preto IAC-600 produzidos em escala de bancada de 15L com levedura pré-tratada ou não, e dos respectivos destilados.

Fermentado	Média dos volumes dos fermentados (L) e dos teores em etanol (°GL)	Média dos volumes dos <i>low wines</i> (mL) e dos teores em etanol (°GL)	Média dos Volumes (mL) e teores em etanol (°GL)	
			Cabeça	Coração
Levedura ^a	11,80 ± 0,10/7,18 ± 0,38	4076 ± 223/21	190 ± 30/75	1300 ± 50/54
Levedura ^b	11,50 ± 0,20/6,77 ± 0,22	3709 ± 119/21	229 ± 4/75	1125 ± 95/54

Valores provenientes de duas repetições expressos como média e desvio padrão

^asem pré-tratamento

^bpré-tratada

Cada destilado alcoólico simples (coração) teve o teor de etanol corrigido para 40°GL e foi retirada uma amostra de 300mL para determinação da acidez volátil em álcool metílico, alcoóis superiores, aldeídos, chumbo, cobre, ésteres expressos, furfural e somatório dos congêneres, seguindo a metodologia oficial MAPA (BRASIL, 2005).

5.7. Obtenção do mosto filtrado de malte de cevada na escala de bancada de 15 L

Após o término da hidrólise do amido procede-se a filtração da água primária, pela camada filtrante ou “torta” (Figura 17) formada pelo bagaço de malte de cevada, sendo posteriormente realizada a lavagem desta “torta” com água secundária a 83°C. Desta forma obtém-se o mosto filtrado (Figura 18).

Figura 17. Camada filtrante ou “torta” de bagaço de malte de cevada.

Figura 18. Mosto de malte de cevada no galão de vidro de 20 L.

Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes de mostos filtrados (L) e dos extratos originais (°P) para o malte de cevada (Tabela 13).

Tabela 13. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes (L) e dos extratos originais (°P) dos mostos filtrados de malte de cevada.

Mosto filtrado utilizado com levedura	Média dos volumes de mosto filtrado (L)	Média dos extratos originais (°P)
Sem pré-tratamento	16,10 ± 0,10	15,32 ± 0,10
Pré-tratada	16,00 ± 0,10	15,17 ± 0,17

Valores provenientes de duas repetições expressos como média e desvio padrão.

O mosto filtrado, após resfriado até 30°C foi inoculado com levedura pré-tratada ou não a 40 °C por uma hora, como descrito no item 4.3.1.

5.8. Fermentação do mosto filtrado de malte de cevada na escala de bancada de 15L

As duas repetições da fermentação do mosto filtrado de malte de cevada realizadas em temperatura ambiente terminaram após 48 horas de fermentação, sendo a produtividade volumétrica em etanol calculada.

5.8.1. Produtividade volumétrica em etanol e rendimento no fermentado de mosto filtrado de malte de cevada produzido em escala de bancada de 15L

Os valores experimentais da produtividade volumétrica em etanol e rendimento foram representados em função do tempo de fermentação do mosto filtrado de malte de cevada, em escala de bancada de 15L, com levedura sem pré-tratamento (Figura 19) e com levedura pré-tratada (Figura 20).

Figura 19. Valores experimentais da produtividade volumétrica e rendimento em etanol, utilizando levedura sem pré-tratamento.

Figura 20. Valores experimentais da produtividade volumétrica e rendimento em etanol, utilizando levedura pré-tratada.

Foi realizada a análise estatística das médias das produtividades em etanol das fermentações realizadas em escala de bancada de 15L, no mosto filtrado de malte de cevada, com levedura pré-tratada ou não a 40°C por uma hora, e não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$). Portanto, na realização das fermentações em escala piloto de 125L, a levedura não foi pré-tratada.

Estes valores foram analisados estatisticamente para verificar se a utilização de leveduras pré-tratadas ou não apresentam diferença significativa, para posteriormente realizar as fermentações em escala piloto de 125L.

Cada fermentado do mosto filtrado de malte de cevada produzido foi delevaturado em centrífuga Beckman J6 HC (Estados Unidos) a 4000xg por 15min, e posteriormente destilado em alambique de bancada de 20L.

5.9. Destilação do fermentado do mosto filtrado de malte de cevada em escala de bancada no alambique de 20L

Durante a destilação, o “coração” ou uísque foi inicialmente coletado em recipiente apropriado a partir de 75°GL e quando o volume total atingiu 63°GL foi realizado o corte da fração “coração” ou uísque. A Tabela 14 apresenta os resultados das destilações realizadas com o fermentado do mosto filtrado de malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L com levedura pré-tratada ou não a 40°C por uma hora, como descrito no item 4.3.1.

Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes e dos teores em etanol dos fermentados de malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L com levedura pré-tratada ou não, e dos respectivos destilados estão mostrados na Tabela 14.

Tabela 14. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos volumes e dos teores em etanol dos fermentados de mosto filtrado de malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L com levedura pré-tratada ou não, e dos respectivos destilados.

Fermentado	Média dos volumes dos fermentados (L) e dos teores em etanol (°GL)	Média dos volumes dos <i>low wines</i> (mL) e dos teores em etanol (°GL)	Média dos Volumes (mL) e teores em etanol (°GL)	
			Cabeça	Coração
Levedura ^a	15,80 ± 0,09/7,37 ± 0,11	5423 ± 77/21	190 ± 10/75	1280 ± 20/63
Levedura ^b	15,40 ± 0,10/7,80 ± 0,20	5834 ± 261/21	213 ± 12/75	1230 ± 18/63

Valores provenientes de duas repetições expressos como média e desvio padrão

^asem pré-tratamento

^bpré-tratada

Cada destilado alcoólico simples (coração) teve o teor de etanol corrigido para 40°GL e foi retirada uma amostra de 300mL para determinação da acidez volátil em álcool metílico, alcoóis superiores, aldeídos, chumbo, cobre, ésteres expressos, furfural e somatório dos congêneres, seguindo a metodologia oficial MAPA (BRASIL, 2005).

5.10. Obtenção do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 e fermentação em escala piloto de 125L

O hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 com volume de 90L e 14,20°P de extrato original foi resfriado até 30°C na tina de fermentação de 125L e inoculado com levedura liofilizada sem pré-tratamento obtendo a concentração de 0,4g peso seco/L de meio fermentativo.

A fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 realizada em temperatura ambiente, terminou após 90 horas de fermentação, sendo o fermentado delevedurado por precipitação através da redução da temperatura da tina de fermentação para 9°C, por 12 horas, quando foi destilado em alambique de 160L.

5.11. Obtenção do mosto filtrado de malte de cevada e fermentação em escala piloto de 125L

O mosto filtrado de malte de cevada com o volume de 100L e 15,80°P de extrato original foi resfriado até 30°C na tina de fermentação de 125L e inoculado com levedura liofilizada sem pré-tratamento obtendo a concentração de 0,4g peso seco/L de meio fermentativo.

A fermentação do mosto filtrado de malte de cevada realizada em temperatura ambiente, com levedura sem pré-tratamento, terminou após 48 horas de fermentação, sendo o fermentado delevedurado por precipitação através da redução da temperatura da tina de fermentação para 9°C, por 12 horas, quando foi destilado em alambique de 160L.

5.12. Destilação em escala piloto no alambique de 160L do fermentado do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada

O fermentado do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 e o fermentado do mosto filtrado de malte de cevada produzidos na escala piloto de 125L da

Microcervejaria da EEL-USP, foram destilados separadamente em escala piloto no alambique de cobre de 160L e desta forma obteve-se os destilados alcoólicos simples de cada matéria-prima (Figura 21).

Figura 21. (A) Destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600, a 40°GL, não envelhecido e (B) destilado alcoólico simples de malte de cevada, a 40°GL, não envelhecido.

Os valores dos volumes e teores em etanol do fermentado do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 e do fermentado do mosto filtrado de malte de cevada, produzidos em escala piloto de 125L com levedura sem pré-tratamento, e dos seus respectivos destilados estão apresentados nas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

Tabela 15. Volume e teor em etanol do fermentado do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 produzido em escala piloto de 125L, e dos respectivos destilados obtidos.

Fermentado	Volume do fermentado (L) e teor em etanol (°GL)	Volume do <i>low wines</i> (mL) e teor em etanol (°GL)	Volume (mL) e teor em etanol (°GL)	
			Cabeça	Coração
Levedura ^a	85/7,82	31,6/21	550/75	7800/54

^asem pré-tratamento

Tabela 16. Volume e teor em etanol do fermentado do mosto filtrado de malte de cevada produzido em escala piloto de 125L, e dos respectivos destilados obtidos.

Fermentado	Volume do fermentado (L) e teor em etanol (°GL)	Volume do <i>low</i> <i>wines</i> (mL) e teor etanol (°GL)	Volume (mL) e teor etanol (°GL)	
			Cabeça	Coração
Levedura ^a	100/8,34	39,7/21	850/75	7500/63

^asem pré-tratamento

Somente o destilado alcoólico simples de malte de cevada foi envelhecido aceleradamente.

Durante a fermentação são produzidos os principais congêneres, porém, a destilação é importante para equilibrar os teores destes congêneres no destilado alcoólico final (DOLAN, 2003). Normalmente, uísques recém-destilados, apresentam sabor desagradável, precisando passar pelo envelhecimento em barris de carvalho para produzir um produto de boa qualidade sensorial (PIGGOTT et al., 1995). Durante o envelhecimento ocorrem transformações na composição e quantidade dos congêneres, equilibrando o perfil sensorial do uísque (OLIVEIRA, 2012).

5.13. Envelhecimento do destilado alcoólico simples de malte de cevada e obtenção dos uísques cortados

O envelhecimento acelerado utilizou 90g de raspas de carvalho europeu *Nobile intense*, que misturado a 6L de destilado alcoólico simples de malte de cevada a 45°GL em Erlenmeyer, permaneceu durante nove dias a 50°C em banho-maria, obtendo o destilado alcoólico simples de malte de cevada a 43°GL após o envelhecimento por nove dias (Figura 22).

Figura 22. (A) Raspas de madeira de carvalho europeu *Nobile intense*; (B) erlenmeyer com 6L de destilado alcoólico simples de malte de cevada a 45°GL com 90g de raspas de carvalho europeu *Nobile intense* pronto para o início do envelhecimento acelerado e (C) destilado alcoólico simples de malte de cevada a 43°GL envelhecido por nove dias a 50°C.

Após o envelhecimento acelerado obteve-se o volume de 5880mL de destilado alcoólico simples de malte de cevada a 43°GL, sendo utilizado para produção dos uísques cortados produzidos neste trabalho (Figura 23).

Durante o envelhecimento em barris de carvalho, recipiente que não é impermeável, ocorre a evaporação da água e do álcool presentes no destilado armazenado, além da entrada de oxigênio. A perda de pequena porcentagem de álcool do destilado tem sido aceita como parte da maturação, chamada de parte dos anjos, e varia com as condições ambientais aonde os barris são armazenados (REID; WARD, 1994; STIRK, 2002; PIGGOTT; CONNER, 2003). De acordo com Stirk (2002), a cada ano é estimado que um único barril perca aproximadamente 2% do seu volume em evaporação, reduzindo o teor alcoólico em 0,4% v/v.

Figura 23. (A) Uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido; (B) uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido e (C) destilado alcoólico simples de malte de cevada a 42°GL envelhecido por nove dias a 50°C.

A Tabela 17 mostra os teores dos congêneres e contaminantes encontrados nos destilados alcoólicos simples de malte de cevada, não envelhecido e envelhecido.

Tabela 17. Teores dos congêneres e contaminantes encontrados nos destilados alcoólicos simples de malte de cevada, não envelhecido e envelhecido.

Componentes	Unidade	VMP*	1	2	3
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100mL de álcool anidro	150	4,2	8,4	66
Álcool metílico	mg/100mL de álcool anidro	20	3,5	4,3	7,0
Alcoóis superiores	mg/100mL de álcool anidro	300	290	354	360
Aldeído, em acetaldeído	mg/100mL de álcool anidro	20	2,5	3,4	9,0
Chumbo	µg/L	200	8,0	22	9,3
Cobre	mg/L	5,0	2,8	0,8	1,2
Ésteres, em acetato de etila	mg/100mL de álcool anidro	150	10	7,1	13
Furfural	mg/100mL de álcool anidro	5,0	2,5	11	18
Somatório dos congêneres	mg/100mL de álcool anidro	100 ^b	309	384	466

1 - Destilado alcoólico simples de malte de cevada produzido com leveduras sem pré-tratamento, em escala de bancada, não envelhecido

2 - Destilado alcoólico simples de malte de cevada obtido em escala piloto no alambique de 160L e não envelhecido

3 - Destilado alcoólico simples de malte de cevada obtido em escala piloto no alambique de 160L e envelhecido

* VMP – valor máximo permitido de acordo com a Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

^a – faixa permitida pela da Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

^b – mínimo exigido pela da Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

Observando os resultados expressos na Tabela 17, verifica-se que com exceção do teor de alcoóis superiores e do teor de furfural encontrados nos destilados alcoólicos simples de malte de cevada, obtido em escala piloto no alambique de 160L, não envelhecido e envelhecido, todos os outros componentes avaliados estão abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2011b).

Estudos realizados demonstram que o teor de aldeídos, ésteres e a acidez volátil aumentam durante a maturação (REAZIN, 1981; BALDWIN; BLACK et al., 1967), como demonstrado na Tabela 17, aonde observa-se o aumento drástico apenas da acidez volátil, expressa em ácido acético.

Precursores insolúveis no destilado, provenientes do extrato de madeira são gradualmente transformados em ácido acético. Por exemplo, o ácido pirolenhoso que é obtido da madeira quando esta é submetida à temperatura de 250°C, apresenta em sua composição cerca de 10% de ácido acético (AQUINO, 2004). A oxidação do etanol é uma das formas de produção de ácido acético. Porém, segundo Alcarde et al. (2005), a injeção de oxigênio puro durante o envelhecimento acelerado, favorece uma maior extração dos componentes da madeira, e influencia positivamente as características sensoriais do produto envelhecido.

Durante o envelhecimento o aumento do teor de ácido acético desloca o equilíbrio da reação dele com o etanol, produzindo acetato de etila. De acordo com Aquino (2004) o aumento do teor total de ésteres é muito evidente principalmente para o acetato de etila, que é o maior representante desta classe de compostos presentes em bebidas destiladas.

O furfural é formado pela pirogênese que ocorre na queima de material orgânico depositado no fundo das caldeiras dos alambiques aquecidos durante a destilação, sobretudo de células de levedura, e seu teor varia em função da quantidade desse material presente no mosto fermentado e da intensidade da aplicação do calor para destilar (SINGLETON, 1995; LIMA, 1992). Se o mosto fermentado estiver livre de substâncias orgânicas em suspensão, a formação do furfural pode ser evitada (FARIA et al., 2003). Este aumento no teor de furfural verificado na Tabela 17, provavelmente ocorreu porque o mosto fermentado produzido em escala de bancada de 15L foi centrifugado, enquanto o produzido na escala piloto de 125L não foi. Isto demonstra que o processo de deleveduração realizado na escala piloto de 125L não eliminou totalmente as células de levedura, como ocorreu na centrifugação, ocasionando aumento do teor de furfural.

Por outro lado, várias substâncias podem servir como marcadores de envelhecimento do uísque. Entre elas, temos as substâncias fenólicas de baixo peso

molecular, que são extraídas da madeira durante o envelhecimento através de mecanismos de degradação da hemicelulose e lignina, que constituem os componentes principais da madeira (AQUINO et al., 2006).

Em relação ao teor de alcoóis superiores estar acima da legislação brasileira (BRASIL, 2011b), a sua produção ocorre através do metabolismo secundário intracelular, realizado pelas leveduras, que por desaminação oxidativa ou por transaminação de aminoácidos presentes no meio fermentativo, são transformados inicialmente em ceto-ácidos. Estes, por descarboxilação, são convertidos em aldeídos os quais, por redução enzimática, finalmente se convertem nos alcoóis superiores correspondentes (BELITZ; GROSCH; SHIEBERLE, 2009). Em excesso, os alcoóis superiores tornam-se oleosos, e são denominados de óleo fúsel, exalando forte aroma floral e descaracterizando e diminuindo a qualidade da bebida (CARDOSO, 2006). A Tabela 17 mostra que o teor de alcoóis superiores praticamente não sofreu alteração durante o processo de envelhecimento, realizado com o destilado alcoólico simples de malte de cevada, e demonstra que estes alcoóis foram produzidos no processo fermentativo, como descrito anteriormente.

Em função das especificidades no processo de envelhecimento, como: os aspectos ambientais (temperatura e umidade), o teor alcoólico inicial do destilado a ser envelhecido, o tempo de guarda propriamente dito (CAMPOS, 2000), os aspectos da tanoaria (capacidade do barril, gênero e espécie da madeira, intensidade e temperatura utilizada na queima, número de vezes que o barril foi usado, bebida anteriormente armazenada no caso de reuso), e o tipo de destilado armazenado (grãos ou puro malte), um destilado pode apresentar características únicas que o diferencie em relação aos demais (adaptado de PINHEIRO, 2010), como pode ser verificado anteriormente nos diferentes destilados citados na Tabela 17.

5.14. Análises químicas dos uísques cortados

Os resultados das análises químicas para caracterização dos destilados alcoólicos simples de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada, assim como dos uísques cortados produzidos foram comparados com os parâmetros determinados pela Instrução Normativa nº15 do MAPA (BRASIL, 2011b).

Os resultados das análises químicas estão apresentados nas Tabelas 18 e 19.

Tabela 18. Teores dos congêneres e contaminantes encontrados nos destilados alcoólicos simples de malte de cevada e de quirera de arroz preto IAC-600 produzidos em escala piloto de 125L e destilados em alambique de 160L e dos uísques cortados produzidos.

Componentes	Unidade	VMP	1	2	3	4
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100mL de álcool anidro	150	66	8,4	31	39
Álcool metílico	mg/100mL de álcool anidro	20	7,0	2,8	3,8	4,0
Alcoóis superiores	mg/100mL de álcool anidro	300	360	319	337	336
Aldeído, em acetaldeído	mg/100mL de álcool anidro	20	9,0	11	11	10
Chumbo	µg/L	200	9,3	17	19	18
Cobre	mg/L	5,0	1,2	1,5	2,8	2,2
Ésteres, em acetato de etila	mg/100mL de álcool anidro	150	13	17	17	15
Furfural	mg/100mL de álcool anidro	5,0	18	1,2	6,0	9,2
Somatório dos congêneres	mg/100mL de álcool anidro	100 ^a	466	355	402	409

1 - Destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido obtido do fermentado com levedura sem pré-tratamento em escala piloto de 125L

2 - Destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 obtido do fermentado com levedura sem pré-tratamento em escala piloto de 125L

3 - Uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido

4 - Uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido

VMP – valor máximo permitido de acordo com a Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

^a – mínimo exigido pela Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

Os padrões e respectivos limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº15 do MAPA (BRASIL, 2011b) têm como objetivo controlar a qualidade da bebida e proteger seus consumidores, não significando que o uísque que esteja dentro destes padrões seja um produto de qualidade sensorial superior.

Observando os resultados expressos na Tabela 18, verifica-se que com exceção do teor de alcoóis superiores e do teor de furfural encontrados nos uísques cortados produzidos neste trabalho, todos os outros componentes avaliados estão abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2011b).

Todos os destilados obtidos dos fermentados produzidos em escala piloto de 125L e destilados em escala piloto no alambique de 160L apresentaram a soma dos alcoóis superiores acima do estabelecido pela legislação (BRASIL, 2011b), e consequentemente, quando estes destilados obtidos separadamente com malte de cevada e quirera de arroz preto IAC-600, foram posteriormente misturados na proporção de 30% e 50% com 70% e 50% respectivamente, obtiveram-se uísques cortados que também apresentaram a soma

dos alcoóis superiores acima do permitido pela legislação (BRASIL, 2011b). Entretanto, o teor de alcoóis superiores parece não interferir negativamente na qualidade de bebidas, pois dois uísques comerciais puro malte, vendidos internacionalmente, apresentaram concentrações de 468 e 478mg/100mL de álcool anidro, no *Glen Deveron* puro malte de cevada envelhecido 10 anos e *Aberfeldy* puro malte de cevada envelhecido 12 anos, ambos da Escócia, respectivamente (Alcarde et al., 2009).

Pode-se observar que o destilado alcoólico simples de malte de cevada produzidos em escala piloto de 125L e destilado em escala piloto no alambique de 160L apresentou o teor de furfural acima do permitido pela legislação, e quando este destilado foi posteriormente misturado na proporção de 30% e 50% com respectivamente 70% e 50% do destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido, obteve-se uísques cortados que também apresentaram o teor de furfural acima do permitido.

Como já foi citado, este aumento no teor de furfural verificado na Tabela 18, e nas Tabelas 08.1 e 08.2 que estão nos Apêndices, provavelmente ocorreu porque o mosto fermentado produzido em escala de bancada de 15L foi centrifugado, enquanto o produzido na escala piloto de 125L não foi.

Nóbrega et al. (2013) analisou vários uísques e os resultados estão na Tabela 19, que apresenta também os valores obtidos com os uísques cortados produzidos neste trabalho.

Tabela 19. Teores dos congêneres e de cobre encontrados em um uísque cortado produzido e engarrafado no Brasil (1), em dois uísques escoceses cortados engarrafados no Brasil (2 e 3), em vários uísques escoceses cortados (4), em vários uísques escoceses *bourbon* (5) e nos uísques cortados produzidos neste trabalho (6 e 7).

Componentes	1	2	3	4	5	6	7
Acidez volátil, em ácido acético ^a	26,4	25,3	35,8	*	*	31	39
Álcool metílico ^a	4,2	6,9	5,1	6,8	14,1	3,8	4,0
Alcoóis superiores ^a	122,6	176,6	207,2	176,4	397,4	337	336
Aldeído, em acetaldeído ^a	2,3	4,2	4,7	5,1	8,3	11	10
Chumbo ^b	0,5	0,1	0,2	*	*	0,019	0,018
Ésteres, em acetato de etila ^a	14,6	24,1	27,4	*	*	17	15

Valores citados por Nóbrega et al., 2013

^amg/100mL de álcool anidro

^bmg/L de álcool anidro

* não medido para estes parâmetros

1 - Uísque produzido e engarrafado no Brasil pela mistura de uísque puro malte de cevada com destilado de cereal envelhecido

2 - Uísque engarrafado no Brasil, produzido pela mistura de uísque escocês puro malte de cevada com uísque escocês de grão

3 - Uísque engarrafado no Brasil, produzido pela mistura de uísque escocês puro malte de cevada com uísque escocês de grão

4 - Uísques escoceses cortados, sendo neste caso os valores apresentados na tabela como média de 32 uísques avaliados

5 - Uísques escoceses *bourbon*, sendo neste caso os valores apresentados na tabela como média de 17 uísques avaliados

6 - Uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido

7 - Uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido

Analisando a Tabela 19, observa-se que os teores encontrados nos uísques cortados produzidos neste trabalho estão muito próximos quanto: a) a acidez volátil encontrado no uísque 3; b) ao álcool metílico encontrado no uísque 1; c) aos alcoóis superiores no uísque 5; d) ao aldeído encontrado no uísque 5; e) aos ésteres encontrados no uísque 1. Os valores de chumbo encontrados nos uísques cortados produzidos neste trabalho são inferiores aos citados na Tabela 19.

5.15. Determinação do teor de polifenóis

Na Tabela 20 estão apresentados os teores de polifenóis expressos como equivalente em ácido gálico (mg/L) nos fermentados de quirera de arroz preto IAC-600 e malte de cevada, produzidos com levedura pré-tratada ou não em escala de bancada de 15L, em escala piloto de 125L com levedura sem pré-tratamento, e nos seus respectivos destilados, assim como nos uísques cortados produzidos.

Tabela 20. Teores de polifenóis expressos como equivalente em ácido gálico (mg/L) nos fermentados de quirera de arroz preto IAC-600 e malte de cevada, produzidos com levedura pré-tratada ou não, em escala de bancada de 15L, em escala piloto de 125L, nos seus respectivos destilados e também nos uísques cortados produzidos.

Matéria-prima	Pré-tratamento com a levedura	Escala de produção (L)	Teor de polifenóis expresso como equivalente em ácido gálico (mg/L)		
			Fermentado	Destilado	Uísque cortado
Quirera de arroz preto IAC-600	Sem	Bancada de 15	145 ± 10	0	-
Quirera de arroz preto IAC-600	Com	Bancada de 15	150 ± 8	0	-
Quirera de arroz preto IAC-600	Sem	Piloto de 125	150	0	-
Malte de cevada	Sem	Piloto de 125	-	0	-
A*	-	-	-	462	-
B**	-	-	-	-	141
C***	-	-	-	-	229

A*: destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido ou uísque envelhecido;

B**: uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido; e

C***: uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido.

O valor de 462mg/L de polifenóis, expresso como equivalente em ácido gálico, encontrado no uísque puro malte envelhecido por nove dias neste trabalho está muito próximo ao citado por Fujeda et al. (2008), que obteve 417mg/L num uísque *vatted* (uísque de malte envelhecido em barril de carvalho carbonizado novo), sendo este o maior valor encontrado entre quatro uísques comerciais japoneses avaliados.

De acordo com Kanner et al. (1994) e Heinonen; Lehtonen; Hopia (1998), o conteúdo de polifenóis em vários vinhos e bebidas derivadas das uvas está entre 500 e 4059mg/L, expressos como equivalente em ácido gálico. No caso do uísque, a atividade antioxidante é intermediária a do vinho tinto e branco (GOLDBERG et al., 1999), e os polifenóis do uísque são derivados dos barris durante o armazenamento (PORTO et al., 2000). Koga et al. (2011) relatam que os principais constituintes da fração não volátil são

os polifenóis e os carboidratos que são derivados principalmente das macromoléculas que formam o barril, como celulose, hemicelulose, lignina e tanino. Hojo, Suzuki e Ueda (2004) analisaram os uísques puro malte envelhecidos em barris de carvalho novos (primeiro uso), usados (refil), recarregados, refeitos (partes de barris usados são reutilizados) e barris de vinho xerez, por cinco anos, e estes encontraram entre 200 e 300mg/L e no máximo pouco mais de 500mg/L de polifenóis, expressos como equivalente em ácido gálico. A análise de 24 uísques puro malte avaliados por Koga et al. (2011), obteve o maior valor de 231 ± 42 mg/L de polifenóis, expressos como equivalente em ácido gálico, no uísque puro malte de cevada Yamazaki 18.

Em função das especificidades no processo de envelhecimento, como: os aspectos ambientais (temperatura e umidade), o teor alcoólico inicial do destilado a ser envelhecido, o tempo de guarda propriamente dito (CAMPOS, 2000), os aspectos da tanoaria (capacidade do barril, gênero e espécie da madeira, intensidade e temperatura utilizada na queima, número de vezes que o barril foi usado, bebida anteriormente armazenada no caso de reuso), e o tipo de destilado armazenado (grãos ou puro malte), um destilado pode apresentar características únicas que o diferencie em relação aos demais (adaptado de PINHEIRO, 2010), como pode ser verificado acima nos diferentes uísques analisados e citados por diversos autores. Portanto, o uísque envelhecido sempre apresentará polifenóis que trará muitos benefícios à saúde, dos quais muitos foram citados na revisão bibliográfica, quando a bebida alcoólica for ingerida com moderação conforme descrevem os estudos epidemiológicos, em homens e mulheres, que têm sugerido uma associação em forma de parábola voltada para cima entre o consumo de álcool e a incidência de doença cardíaca coronária, ou seja, havia menos doença em consumidores moderados de etanol do que em abstêmios ou bebedores exagerados (BOFFETTA; GARFINKEL, 1990; KANNEL; ELLISON, 1996; MOORE; PEARSON, 1986; RIMM, 1996).

5.16. Análise sensorial

Os uísques produzidos neste trabalho e utilizados no teste de aceitação realizado por provadores voluntários não treinados, selecionados especificamente para participar da análise sensorial estão representados na Figura 24.

Figura 24. Uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido (A) e uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido (B).

Esta análise sensorial foi realizada por 125 provadores não treinados, sendo 27% do sexo feminino (34 provadores) e 73% do sexo masculino (91 provadores), com idade entre 18 e 32 anos e média de $21,7 \pm 2,9$ anos.

O teste de Friedman compara os quatro uísques avaliados para verificar se há ou não diferença significativa entre eles ($\alpha < 0,05$), quanto aos parâmetros avaliados (cor, aroma, sabor e aceitação global). Os resultados demonstraram que há diferença significativa nos parâmetros cor, aroma e sabor ($p < 0,05$), e que não há diferença significativa quanto ao parâmetro aceitação global ($p > 0,05$).

Para identificar onde estavam às diferenças nos parâmetros avaliados (cor, aroma e sabor) que apresentaram $p < 0,05$ no teste de Friedman, das quatro amostras de uísques, foi utilizada a tabela de Newell e MacFarlane (1987) para analisar os resultados da análise estatística descritos abaixo.

Em relação à cor, as amostras de uísques cortados produzidos neste trabalho e de uísque *bourbon* obtiveram aceitação superior ($p < 0,05$), pelos provadores voluntários não treinados, em relação a amostra de uísque puro malte envelhecido por 12 anos.

Quanto ao aroma, as amostras de uísque *bourbon* e de uísque puro malte envelhecido por 12 anos obtiveram aceitação superior ($p < 0,05$), pelos provadores voluntários não treinados, em relação ao uísque cortado produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido com 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido.

O parâmetro sabor com o uísque cortado produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido obteve aceitação superior, pelos provadores voluntários não treinados, quando comparado com o uísque puro malte envelhecido por 12 anos e com o uísque *bourbon*.

Os resultados obtidos com provadores voluntários não treinados demonstram que o uísque cortado, produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido, apresentou diferença significativa nos parâmetros cor e sabor, e não apresentou diferença significativa no parâmetro aceitação global entre os quatro uísques avaliados.

5.17. Análise descritiva quantitativa

A ADQ[®] das amostras dos uísques cortados produzidos neste trabalho foi realizada com uísques diluídos a 20°GL, sendo avaliada por dez provadores treinados. O perfil sensorial aromático foi utilizado para descrever e comparar as duas amostras, sendo observados e quantificados nove atributos aromáticos: malte cru, cereal, sem característica de envelhecimento, pão, fermento, tinta, podre, azedo e baunilha.

Os resultados foram apresentados em um gráfico denominado “*spider-web*” (“gráfico-aranha”), onde grafica-se a intensidade dos aromas encontrados, tomando-se o ponto central como zero, demonstrado na Figura 25.

Figura 25. Gráfico-aranha da intensidade dos aromas encontrados nas amostras de uísques cortados produzidos na Microcervejaria da EEL-USP de Lorena.

*Amostra 1: uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido

*Amostra 2: uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido

Os resultados demonstram que o processo de envelhecimento acelerado utilizado neste trabalho não forneceu os atributos aromáticos desejados aos uísques cortados produzidos, pois observa-se na Figura 25 que os atributos malte cru, cereal e sem característica de envelhecimento são os mais intensamente percebidos na análise. A amostra 2 que possui a maior proporção de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido em relação a amostra 1 não apresentou melhores resultados nesta análise.

O único atributo que indica uma suavização no aroma e sabor do uísque apresentado é a baunilha, que foi o menos intenso na amostra 2.

Portanto, o método de envelhecimento acelerado utilizado neste trabalho deve ser aperfeiçoado ou então substituído pelo método tradicional de envelhecimento em barris de carvalho objetivando a obtenção de um uísque com características de envelhecimento desejadas, tais como floral, frutado, maltado, delicado, aroma de amêndoa, aroma de baunilha, dentre outros.

6. Conclusões

A melhor condição de hidrólise com a quirera de arroz preto IAC-600 realizada na escala de bancada de 500mL com enzimas exógenas, de acordo com a análise estatística, foi a de 30 minutos de hidrólise a 95°C com 1000mg de Brautec alfa TF[®]/kg de amido em base seca e 750mg de Maltezyne W[®]/kg de matéria prima em base seca, sendo posteriormente adicionada 500mg de Maltezyne W[®]/kg de matéria prima em base seca quando a temperatura atingiu 60°C, permanecendo até a hidrólise do amido apresentar teste de iodo negativo, o que ocorreu após 50 minutos.

A melhor condição de hidrólise com a quirera de arroz preto IAC-600 realizada na escala de bancada de 500mL, de 15L e na escala piloto de 125L, apresentou eficiência de 75,10%, 80,34% e 73,76%, respectivamente, o que demonstra que o processo é viável para produção de uísque de grão sem a utilização das enzimas do malte de cevada para hidrólise do amido.

A utilização das células liofilizadas da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, pré-tratada ou não com aquecimento por uma hora a 40°C, na concentração de 0,4g peso seco/L de meio, usada nas fermentações de hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 e do mosto filtrado de malte de cevada, realizadas separadamente, não apresentaram diferença significativa na produtividade volumétrica em etanol na escala de bancada de 15L.

A tina de mosturação (MEC BIER, São Paulo) presente na escala piloto com capacidade de 125L, da Microcervejaria da EEL-USP de Lorena, é apropriada para a realização de todo o processo com a matéria prima quirera de arroz preto IAC-600 proposta neste trabalho, utilizando apenas as enzimas exógenas Brautec alfa TF[®] e Maltezyne W[®] para hidrolisar o amido, e a tina de filtração com capacidade de 125L, contendo agitador e disco filtrante Pak Screens (fundo com ranhuras), também foi adequada para promover a filtração e clarificação do hidrolisado obtido.

A análise química, nos destilados alcoólicos simples de malte de cevada e de quirera de arroz preto IAC-600 obtidos dos fermentados produzidos em escala de bancada de 15L, de todos os componentes avaliados demonstrou que estão abaixo dos limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº15 do MAPA, enquanto nos destilados obtidos dos

fermentados produzidos na escala piloto de 125L, apenas o teor de alcoóis superiores encontrado no destilado alcoólico simples de malte de cevada e de quirera de arroz preto IAC-600 está acima do limite estabelecido por lei, como também ocorreu com o teor de furfural encontrado apenas no destilado alcoólico simples de malte de cevada.

A análise química, nos dois uísques cortados produzidos neste trabalho, demonstrou que todos os componentes avaliados estão de acordo com os limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº15 do MAPA, com exceção do teor de alcoóis superiores e de furfural.

Os teores de polifenóis expressos como equivalente em ácido gálico encontrados nos fermentados de quirera de arroz preto IAC-600 produzidos em escala de bancada de 15L, com levedura pré-tratada ou não foram de 145 ± 10 e 150 ± 8 mg/L, respectivamente, enquanto o teor no fermentado produzido na escala piloto de 125L com levedura sem pré-tratamento foi de 150mg/L. Estes resultados estão abaixo do teor encontrados em vinhos brancos e tintos obtidos de uvas.

O teor de polifenóis expresso como equivalente em ácido gálico encontrado no uísque cortado a 40°GL produzido com 30% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 70% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido foi de 141mg/L, enquanto no uísque cortado a 40°GL produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido foi de 229mg/L, e estes valores estão próximos aos citados por diversos autores para uísque puro malte.

O processo de envelhecimento acelerado realizado em nove dias, utilizado neste trabalho, foi capaz de proporcionar o aumento de congêneres no destilado alcoólico simples de malte de cevada, que apresentou coloração intensa. Apesar do aumento da acidez volátil durante o envelhecimento, esta permaneceu dentro dos padrões legais exigidos no Brasil.

Os resultados obtidos da análise sensorial na Microcervejaria da EEL-USP, realizada com os quatro uísques, com provadores voluntários não treinados e maiores que 18 anos, demonstrou que o uísque cortado produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% de destilado alcoólico simples de quirera de arroz

preto IAC-600 não envelhecido, apresentou diferença significativa nos parâmetros cor e sabor, e como não houve diferença significativa no parâmetro aceitação global entre os quatro uísques avaliados, este uísque cortado possui potencial mercadológico como um produto novo, apresentando sabor diferenciado em relação aos dois uísques comerciais encontrados no mercado mundial (o puro malte envelhecido por 12 anos e o *bourbon*).

A ADQ[®] realizada por dez provadores treinados na *Pernod Ricard* com as amostras dos dois uísques cortados produzidos neste trabalho apresentou nove atributos aromáticos presentes no perfil sensorial, sendo: malte cru, cereal, sem característica de envelhecimento, pão, fermento, tinta, podre, azedo e baunilha. Portanto, o processo de envelhecimento acelerado utilizado neste trabalho não forneceu os atributos aromáticos desejados aos uísques avaliados.

Sugestões para futuros trabalhos

Avaliar a adição de diferentes concentrações de mono e/ou diamino-fosfato ao hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, para avaliar se ocorre redução do tempo de fermentação.

Verificar se a bebida fermentada de quirera de arroz preto IAC-600 produzida em menor tempo de fermentação terá maior teor de polifenóis, objetivando o aumento do poder antioxidante no uso desta bebida.

Realizar análise sensorial da bebida fermentada produzida com quirera de arroz preto IAC-600 e comparar com o saquê produzido tradicionalmente.

Avaliar temperaturas menores na hidrólise da quirera de arroz preto IAC-600, utilizando a enzima α -amilase termosensível, para reduzir o custo energético do processo.

Avaliar diferentes concentrações das enzimas Maltezyne W[®] e Panzyn GA[®] adicionadas concomitantemente na segunda etapa do processo de hidrólise.

Testar diferentes concentrações da enzima Panzyn GA[®] adicionada no hidrolisado filtrado para fermentação, avaliando o aumento da produtividade volumétrica em etanol e redução do tempo de fermentação.

Avaliar diferentes proporções de malte de cevada e quirera de arroz preto IAC-600 para realização da etapa de mosturação e posterior destilação, avaliando as características químicas e sensoriais do uísque produzido.

Utilizar a casca de arroz em diferentes proporções junto com a quirera de arroz preto IAC-600 no processo de hidrólise, para analisar a facilidade da obtenção de mosto filtrado durante o processo de filtração.

Realizar a destilação do *low wines* misturado às frações “cabeça” e a “cauda” de uma destilação anterior, para aumentar o volume final da fração “coração” e realizar a análise

química para comparação dos teores de congêneres e contaminantes com aquelas obtidas neste trabalho.

Avaliar diferentes proporções do bagaço de malte de cevada obtido após a filtração para produção de barras de cereais.

Comparar o teor de congêneres do envelhecimento acelerado proposto neste trabalho com o envelhecimento tradicional realizado em barril de carvalho por 2 anos, utilizando o destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada.

Realizar o envelhecimento acelerado com raspas de carvalho tostados, sem adição diária de oxigênio puro, à temperatura ambiente, avaliando o processo por 30, 45, 60, 75 e 90 dias.

Realizar o envelhecimento acelerado com raspas de carvalho tostados, com adição diária de ozônio, à temperatura ambiente.

Avaliar diferentes tratamentos de tostagem nas raspas de carvalho, modificando o tempo e a temperatura de tostagem, comparando os resultados obtidos durante o envelhecimento acelerado.

Avaliar diferentes tempos de pré-tratamento da imersão das raspas de carvalho, em água em ebulição, para posterior utilização no envelhecimento acelerado.

Avaliar outras concentrações de inóculo durante as fermentações: 20 e 60g/L de leveduras liofilizadas, para posterior quantificação do teor de etanol e de congêneres nos uísques produzidos.

Referências

- ABDEL-AAL, E. S. M.; YOUNG, J. C.; RABALSKI, I. Anthocyanins composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, p. 4696–4704, 2006.
- ACQUAVIVA, R.; RUSSO, A.; GALVANO, F.; GALVANO, G.; BARCELLONA, M. L.; LI VOLTI, G.; VANELLA, A. Cyanidin and cyanidin 3-O- β -D-glucoside as DNA cleavage protectors and antioxidants. **Cell Biol. Toxicol.**, v.19, p. 243–252, 2003.
- ADU-KWARTENG, E.; ELLIS, W. O.; ODURO, I.; MANFUL, J. T. Rice grain quality: A comparison of local varieties with new varieties under study in Ghana. **Food Control**, v.14, n.7, p. 507–514, 2003.
- AHUJA, U.; AHUJA, S. C.; CHAUDHARY, N.; THAKRAR, R. Red rices – past, present and future. **Asian Agri-History**, v.11, p. 291–304, 2007.
- AKOH, C. C.; CHANG, S. W.; LEE, G. C.; SHAW, J. F. Biocatalysis for the Production of Industrial Products and Functional Foods from Rice and Other Agricultural Produce. **J. Agric. Food Chem.**, v.56, p. 10445–10451, 2008.
- AKTINSON, B., MAVITUNA, F. **Upstream processing**. In: BIOCHEMICAL Engineering and Biotechnology. New York: Stockton Press, 1991. p. 525.
- ALCARDE, R. B.; CASTRO NETO, J. T.; C. BORRAGINI, M. C.; FARIA, J. B. Efeito da presença de ar no envelhecimento de aguardente de cana com circulação forçada. **Alim. Nutri.**, v. 16, n. 3, p. 239-243, 2005.
- ALCARDE, R. B.; SOUZA, P. A; BOSQUEIRO, A. C.; BELLUCO, A. E. S. Perfil físico-químico de aguardente de cana-de-açúcar produzida por metodologias de dupla destilação em alambique simples. **Alim. Nutr.**, v. 3, n.20, p. 499 – 506, 2009.
- ALLAHBADIA, G.N.; KADAM, K.S.; GANDHI, G.N.; ARORA, S.; VIRK, S.; KAUR, K. To study the efficacy and tolerability of a traditional India drug containing D-chiro-inositol versus Metformin in hyperinsulinemic PCOS subject. **Fertility and Sterility**, v.86, n. 3, S461, 2006.
- ALMEIDA e SILVA, J. B. **Tecnologia de Bebidas**: matéria prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado In: VENTURINI FILHO, W. G. Cerveja. São Paulo: Edgard Blucher, 2005.
- AMARAL, L. I. V.; GASPAR, M.; COSTA, P. M. F.; AIDAR, M. P. M. e BUCKERIDGE, M. S. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoehnea**, v. 34, n.4, p. 425 – 431, 2007.
- AQUINO, F. W. B. **Determinação de compostos fenólicos em extratos de *Amburana cearensis* (Fr. All.) A. C. Smith e em aguardentes de cana envelhecidas do Ceará**. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, 2004.

AQUINO, F. W. B. Determinação de marcadores de envelhecimento em cachaças. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 145-149, 2006.

AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS - Methods of Analysis of the American Society of Brewing Chemists. 8th Rev. Ed. Minnesota: **The Technical Committee and the Editorial Committee of the ASBC**, 1996.

AYLOTT, R. Whisky analysis. In: RUSSEL, I.; STEWART, G.; BAMFORTH, C.; RUSSEL, I. (eds.). **WHISKY Technology, Production and Marketing**. New York: Elsevier, 2003. Cap. 9, p. 275-306.

AZEREDO, D. P. **Síntese e degradação de glicogênio e viabilidade de levedura cervejeira**. 1999. 103f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

BALDWIN, S.; BLACK, R. A.; ANDREASEN, A. A.; ADAM, S. L. Aromatic congener formation in maturation of alcoholic distillates. **J. of Agric. and Food Chem.**, v.15, p.381-385, 1967.

BEGNI, B.; BRIGHINA L.; SIRTONI, E.; FUMAGALLI, L.; ANDREONI, S.; BERETTA, A. Oxidative stress impairs glutamate uptake in fibroblasts from patients with Alzheimer's disease. **Free Radical Biol. Med.**, v.37, p. 892–890, 2004.

BEHALL, K. M.; SCHOFIELD, D. J.; HALLFRISCH, J. Barley β -glucan reduces plasma glucose and insulin responses compared with resistant starch in men. **Nutrition Research**, v.26, p. 644–650, 2006.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 4th revised and extended, ed. Springer, Germany, 2009.

BENNANI, N.; FABRE, H. Performances of a capillary electrophoresis method for the determination of meso-inositol in a tablet formulation. **Analytica Chimica Acta**, v. 434, p. 67–73, 2001.

BHATTY, R. S. β -glucan content and viscosities of barleys and their roller-milled flour and bran products. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 469-471, 1992.

BOFFETTA, P.; GARFINKEL, L. Alcohol drinking and mortality among men enrolled in an American Cancer Society prospective study. **Epidemiology**, v. 1, n. 5, p. 342-348, 1990.

BOOTH, M.; SHAW, W.; MORHALO, L. Blending and bottling. In PIGGOTT, J. R.; SHARP, R.; DUNCAN, R. E. B. **The science and technology of whiskies**. (S.l.): Longman Scientific & Technical, 1989. p. 295 – 326

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução normativa nº13, de 29 de junho de 2005. Disponível em: <<http://imanet.ima.mg.gov.br/nova/gec/Legislacao/mapa/IN13.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2011.

BRASIL. Decreto nº 6871 de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº8918, de 14 de junho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Presidência da República, Casa Civil, Brasília, DF**, 4 jun. 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em: 22 jan. 2010.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2011a. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/qualidade-seguranca-alimentos-bebidas/bebidas/principais-produtos>>. Acesso em: 15 dez. 2011.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução normativa nº 15, de 31 de março de 2011b. Disponível em: <http://www.ufjf.br/baccan/files/2011/05/in-mapa_015-11.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2012.

BRASIL. Portaria do Ministério da Saúde nº2914 de 12 de dezembro de 2011, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Ministério da Saúde, Brasília, 12 de dez. 2011c**. Disponível em: <http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/Portaria_MS_2914-11.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2012.

BRIGGS, D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. **Brewing: science and practice**. England: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, 2004. p. 85-201.

BRINGHURST, T. A.; BROADHEAD, A. L.; BROSNAN, J. Grain whisky: raw materials and processing. In: RUSSEL, I.; STEWART, G.; BAMFORTH, C.; RUSSEL, I. (eds.). **Whisky Technology, Production and Marketing**. New York: Elsevier, 2003. Cap. 3, p. 75-112.

BRYANT, R. J.; McCLUNG, A. M. Volatile profiles of aromatic and non-aromatic rice cultivars using SPME/GC–MS. **Food Chemistry**, v. 124, p. 501–513, 2011.

BURNS, E. **It's a bad thing whisky especially bad whisky**. Glasgow: Balvag Books, 1995.

BUTERY, R. G.; TURNBAUGH, J. G.; LING, L. C. Contribution of volatiles to rice aroma. **J. Agric. Food Chem.**, v. 36, p. 1006–1009, 1988.

BUTSAT, S.; SIRIAMORNPUN, S. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. **Food Chemistry**, v. 119, p. 606–613, 2010.

CAMPBELL, I. Yeast and fermentation. In: RUSSEL, I.; STEWART, G.; BAMFORTH, C.; RUSSEL, I. (eds.). **WHISKY Technology, Production and Marketing**. New York: Elsevier, 2003. Cap. 4, p. 115-150.

CAMPOS, J. O. S. **Emprego de extratos aromáticos de madeiras regionais como agentes de envelhecimento acelerado de aguardentes**. 120 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, 2000.

CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY. **Creating new potential for an old grain – milling hulless barley for fibre-rich fractions and baking healthy bread with barley.** Disponível em: < <http://www.grainscanada.gc.ca/research-recherche/izydorczyk/bb-po/bb-po-eng.htm>>. Acesso em: 03 mar. 2011.

CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardente, In: _____. **Produção de aguardente de cana-de-açúcar.** 2^a. ed. Lavras: UFLA, 2006.

CHAMPAGNE, E. T.; WOOD, D. F.; JULIANO, B. O.; BECHTEL, D. B. The rice grain and its gross composition. In: CHAMPAGNE, E. T. (Ed.). **Rice: chemistry and technology**, 3rd ed.. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, 2004. p. 77-107.

CHAMPAGNE, E. Rice aroma and flavor: A literature review. **Cereal Chemistry**, v.85, p. 445–454, 2008.

CHEN, P. N.; KUO, W. H.; CHIANG, C. L.; CHIOU, H. L.; HSIEH, Y. S.; CHU, S. C. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. **Chem. Biol. Interact.**, v.163, p. 218–229, 2006.

CHENG, T. Y.; ZHU, Z.; MASUDA, S.; MORCOS, N. C. Effects of multinutrient supplementation on antioxidant defense systems in healthy human beings. **J. Nutritional Biochem.**, v.12, p. 388–395, 2001.

CHO, M. H.; PAIK, Y. S.; YOON, H. H.; HAHN, T. R. Chemical structure of the major color component from a Korean pigmented rice variety. **Agric. Chem. Biotech.**, v. 39, p. 304–308, 1999.

CHOI, S. P.; KANG, M. Y.; KOH, H. J.; NAM, S. H.; FRIEDMAN, M. Antiallergic activities of pigmented rice bran extracts in cell assays. **Journal of Food Science**, v. 72, n.9, p.S719–S726, 2007.

CHOI, Y.; JEONG, H. S.; LEE, J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. **Food Chemistry**, v.103, p. 130–138, 2007.

CHUNG, H.S.; SHIN, J.C. Characterization of antioxidant alkaloids and phenolic acids from anthocyanin-pigmented rice (*Oryza sativa* cv. *Heugjinjubyeo*). **Food Chemistry**, v.104, p. 1670–1677, 2007.

CICERO, A. F. G.; GADDI, A. Rice bran oil and c-oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions. **Phytotherapy Research**, v.15, p. 277–289, 2001.

CID, M.B.; ALFONSO, F.; MARTIN-LOMAS, M. Synthesis of fagopyritols A1 and B1 from D-chiro-inositol. **Carbohydrate Research**, v.339, p. 2303–2307, 2004.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, CONAB. **7º Levantamento Grãos Safra 2012/2013 - abr/2013.** Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=>>>. Acesso em: 26 abr. 2013.

CRUZ, J. M.; DOMOANGUEZ, J. M.; DOMOANGUES, H.; PARAJOA, J. C. Solvent extraction of hemicellulosic wood hydrolysates, a procedure useful for obtaining both detoxified fermentation media and polyphenols with antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.67, p. 14-153, 1999.

DE PASCUAL-TERESA, S.; SANTO-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. **J. Sci. Food . Agric.**, 82, p. 1003–1006, 2002.

DELANEY, B.; NICOLSI, R. J.; WILSON, T. A.; CARLSON, T.; FRAZER, S.; ZHENG, G.H. β -Glucan fractions from barley and oats are similarly antiatherogenic and hypercholesterolemic in Syrian golden hamsters. **The Journal of Nutrition**, v.133, p. 468–495, 2003.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMENEZ, A. R.; PAREDES-LOPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.40, p. 173–289, 2000.

DIAGEO. **Diageo Pushes Whisky in China**. 2011. Disponível em: <<http://chinabevnews.wordpress.com/2011/05/14/diageo-pushes-whisky-in-china/>>. Acesso em: 05 jun. 2011

DIAGEO. **Johnnie Walker House opening in Shanghai**. 2010. Disponível em: <<http://www.diageo.com/en-row/ourbrands/infocus/Pages/InFocus-JohnnieWalkerHouse.aspx>>. Acesso em: 10 jun. 2011.

DIAGEO. **Annual Report 2012**. 2012. Disponível em: <www.diageo.com/Lists/Resources/.../1341/Diageo_AR_2012_Low_res.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2013.

DIPLOCK, A. T. Antioxidants and disease prevention. **Mol. Aspects Med.**, v.15, p. 293-376, 1994.

DOLAN, T. C. S. Some aspects of the impact of brewing science on scotch malt whisky production. **J. Inst. Brew**, v. 82, p. 177-181, 1976.

DOLAN, T. C. S. Malt whiskies: Raw materials and processing. In: RUSSEL, I.; STEWART, G.; BAMFORTH, C.; RUSSEL, I. (eds.). **WHISKY Technology, Production and Marketing**. New York: Elsevier, 2003. Cap. 2, p. 27-73.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Editora Champagat, 1996. 122 p.

DUTHIE, G. G.; PEDERSEN, M. W.; GARDNER, P. T.; MORRICE, P. C.; MCE JENKINSON, A; McPHAIL D. B.; STEELE, G. M. The effect of whisky and wine consumption on total phenol content and antioxidant capacity of plasma from healthy volunteers. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 52, p. 733-736, 1998.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION, EBC. **Analytica-EBC**. 5th ed. Zurique: Brauerei-und Getranke – Rundschau, 2000. 271p.

FARIA, J. B.; CARDELLO, H. M. A. B.; BOSCOLO, M.; ISIQUE, W. D.; ODELLO, L.; FRANCO, D. W. Evaluation of Brazilian woods as an alternative to oak for cachaças aging. **European Food Research and Technology**, v. 218, p. 83-87, 2003.

FINOCCHIARO, F.; FERRARI, B.; GIANINETTI, A.; DALL'ASTA, C.; GALAVERNA, G.; SCAZZINA, F.; PELLEGRINI, N. Characterization of antioxidant compounds of red and white rice and changes in total antioxidant capacity during processing. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.51, p. 1006–1019, 2007.

FITZGERALD, M. Starch. In: CHAMPAGNE, E. T. (Ed.) **Rice: chemistry and technology**. 3rd ed. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, 2004. p. 109-141,

FOLTS, J. Potential health benefits from the flavonoids in grape products on vascular disease. In: BUSLIG, B.; MANTHEY, J.A. (Eds.) **Flavonoids in Cell Function**. New York, Kluwer Academic Publishers, 2002. p. 95–111.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, FAO. **Food Outlook Global Market Analysis, may 2012**. Disponível em: <[http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/newsroom/docs/Final%20web%20version%202%20May%20\(2\).pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/newsroom/docs/Final%20web%20version%202%20May%20(2).pdf)>. Acesso em: 20 jun. 2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, FAO. **FAO Rice Market Monitor, April 2013, Volume XVI - Issue nº. 2**. Disponível em: <<http://www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/>>. Acesso em: 26 abr. 2013.

FREEMAN, P. L. Cebada e Malteado. In: EL CERVECERO en la Práctica. 3^a ed. St Paul, MN – EUA: Master's Brewers Association of the Americas, 2002. cap. 3. p. 61 – 85.

FUJEDA, M.; TANAKA, T.; SUWA, Y.; KOSHIMIZU, S.; KOUNO, I. Isolation and structure of whiskey polyphenols produced by oxidation of oak wood ellagitannins. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 7305–7310, 2008.

FUJIEDA, T.; KITAMURA, Y.; YAMASAKI, H.; FURUISHI, A.; MOTOBAYASHI, K. An experimental study on whole paddy saccharification and fermentation for rice ethanol production. **Biomass & bioenergy**, v. 44, p.135-141, 2012.

GIBSON, G.J.; EHRLICH, B.E. Inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor movement is restricted by addition of elevated levels of O-linked sugar. **Cell Calcium**, v. 43, p. 228–235, 2008.

GILGUN-SHERKI, Y.; MELAMED, E.; OFFEN, D. Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. **Neuropharm**, v. 40, p. 959–975, 2001.

GOFFMAN, F. D.; BERGMAN, C. J. Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 1235–1240, 2004.

GOLDBERG, D. M.; HOFFMAN, B.; YANG, J.; SOLEAS, G. J. Phenolic constituents, furans, and total antioxidant status of distilled spirits, **J. Agric. Food Chem.**, n. 47, p. 3978–3985, 1999.

GONZALEZ-ARJONA, D.; GONZALEZ-GALLEROB, V.; PABLOSB, F.; GONZAÇEZ, G. A. Authentication and differentiation of Irish whiskeys by higher-alcohol congener analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 381, p. 257-264, 1999.

GONZALEZ, L.M.; GONZALEZ-LARA, R. A Selective Separation of Alcoholic Beverages and Distilled Wines by Gas Chromatography. **J. Chromatogr. Sci.**, v. 32, p.195-198, 1994.

GOODWIN, J. A. S.; FINLAYSON, J. M.; LOW, E. W. A further study of the anaerobic biotreatment of malt whisky distillery pot ale using an UASB system. **Bioresource Technology**, v. 78, p. 155-160, 2001.

GRONBAEK M.; DEIS, A.; SORENSEN, T.; BECKER, U.; SCHNOHR, P.; JENSEN, G. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer or spirits. **BMJ**, **310**, p. 1165-1169, 1995.

GUO, H. H.; LING, W. H.; WANG, Q.; LIU, C.; HU, Y.; XIA, M.; FENG, X.; XIA, X. D. Effect of anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa* L. *india*) on hyperlipidemia and insulin resistance in fructose-fed rats. **Plant Foods Hum. Nutr.**, v. 62, p. 1–6, 2007.

HA, T.Y.; HAN, S.; KIM, S. R.; KIM, I. H.; LEE, H. Y.; KIM, H. K. Bioactive components in rice bran oil improve lipid profiles in rats fed a high-cholesterol diet. **Nutrition Research**, v. 25, p. 597–606, 2005.

HAN, S. J.; TRINK, H. T.; HONG, S.S.; RYU, S. N.; KIM, D. H. Antipruritic effect of black colored rice. **Nat. Prod. Sci.**, v. 13, p. 373–377, 2007.

HAN, S. J.; RYU, S. N.; TRINH H. T.; JOH, E. H.; JANG, S. Y.; HAN, M. J.; KIM, D. H. Metabolism of cyanidin-3-O- β -D-glucoside isolated from black colored rice and its antiscratching behavioral effect in mice. **J. Food Sci.**, v. 74, p. 253–258, 2009.

HEINONEN, I. M.; LEHTONEN, P. J.; HOPIA, A. L. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. **J. Agric. Food Chem.**, n. 46, p. 25-31, 1998.

HIEMORI, M.; KOH, E.; MITCHELL, A. E. Influence of Cooking on Anthocyanins in Black Rice (*Oryza sativa* L. *japonica* var. SBR). **J. Agric. Food Chem.**, v.57, p. 1908–1914, 2009.

HOJO, M.; SUZUKI, M.; UEDA, T. Solute effects on the interaction between water and ethanol in aged whiskey. **J. Agric. Food Chem.**, n. 52, p. 5359-5365, 2004.

HOPKINS, M. J.; ENGLYST, H. N.; MACFARLANE, S.; FURRIE, E.; MACFARLANE, G. T.; McBAIN, A. J. Degradation of cross-linked arabinoxylans by the

intestinal microbiota in children. **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, p. 6354–6360, 2003.

HOSSEINIAN, F.S.; LI, W.; BETA, T. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. **Food Chemistry**, v. 109, p. 916–924, 2008.

HOU, Z.; QIN, P.; REN, G. Effect of Anthocyanin-Rich Extract from Black Rice (*Oryza sativa* L. *Japonica*) on Chronically Alcohol-Induced Liver Damage in Rats, **J. Agric. Food Chem.** 2010, v. 58, p. 3191–3196, 2010.

HOUAISS, A.; VILLAR, M. S.; FRANCO, F. M. M. (Eds.). **Dicionário eletrônico Houaiss da língua portuguesa**. Rio de Janeiro: Objetiva, 2001. 1 CD-ROM,

HU, C.; ZAWISTOWSKI, J.; LING, W.; KITT, D. D. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reaction oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 51, p. 5271–5277, 2003.

HU, C.; CAI, Y.Z.; LI, W.; CORKE, H.; KITTS, D. D. Anthocyanin characterization and bioactivity assessment of a dark blue grained wheat (*Triticum aestivum* L. cv. *Hedong Wumai*) extract. **Food Chemistry**, v. 104, p. 955–961, 2007.

ICHIKAWA, H.; ICHIYANAGI, T.; XU, B.; YOSHII, Y., NAKAJIMA, M.; KONISHI, T. Antioxidant activity of anthocyanin extract from purple black rice. **Journal of Medicinal Food**, v. 4, p. 211–218, 2001.

INSTITUTE OF BREWING. **IOB Recommended Methods of Analysis**, v.1, Methods 2.7, IOB, 1997.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4ª ed. São Paulo: Digital, 2008. Cap. 6.

INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS, IAC. Primeira cultivar de arroz preto IAC 600 para o Estado de São Paulo. **O agrônomo**, v. 56, Campinas, 2004.

INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. Disponível em: <<http://www.knowledgebank.irri.org/millingprocess/index.php/ricequality-mainmenu-281/quality-characteristics-of-milled-rice-mainmenu-283>>. Acesso em: 17 nov. 2009.

IZYDORCZYK, M. S.; DEXTER, J. E. Barley β -glucans and arabinoxylans: Molecular structure, physicochemical properties, and uses in food products—a Review. **Food Research International**, v. 41, p. 850–868, 2008.

JACK, F. Development of guidelines for the preparation and handling of sensory samples in the scotch whisky industry. **Journal Institute of Brewing**, v. 109, n. 2, p. 114–119, 2003.

JANG, S., XU, Z. Lipophilic and hydrophilic antioxidants and their antioxidant activities in purple rice bran. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 858–862, 2009.

JARIWALLA, R. J. Rice-bran products: Phytonutrients with potential applications in preventive and clinical medicine. **Drugs under Experimental and Clinical Research**, v. 27, p. 17–26, 2001.

JUSTINO, M.; MUTTON, R.; MUTTON, M. A. Aguardente. In: FILHO, W. G. V. **Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento**: BPF/APPCC, legislação e mercado. 1.ed. São Paulo, 2005. , p. 485-522

KANNEL, W. B.; ELLISON, R. C. Alcohol and coronary heart disease: the evidence for a protective effect. **Clin. Chim. Acta**, 246, v.1–2, p. 59-76, 1996.

KANNER, J.; FRANKEL, E.; GRANIT, R.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E. Natural antioxidants in grapes and wines. **J. Agric. Food Chem.**, n. 42, p. 64-69, 1994.

KASAI, M.; ISHIGURO, K.; KYOUDA, H.; HAMAZONO, T.; HATAE, K.; SHIMADA, A. Change in the amounts of reducing sugars and free amino acids in rice during the cooking processes. **Journal of Home Economics of Japan**, v. 51, p. 579–585, 2000.

KEENAN, J. M.; GOULSON, M.; SHAMLIYAM, T.; KNUTSON, N.; KOLBERG, L.; CURRY, L. The effects of concentrated barley b-glucan on blood lipids in a population of hypercholesterolemic men and women. **British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 1162–1168, 2007.

KENNEDY, G.; BURLINGAME, B. Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. **Food Chemistry**, v. 80, p. 589–596, 2003.

KHUSH, G. S. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. **Plant molecular biology**, 35 (1-2), p. 25-34, 1997.

KIM, M. J.; HYUN, J. N.; KIM, J. A.; PARK, J. C.; KIM, M. Y.; KIM, J. G.; LEE, S. J.; CHUN, S. C.; CHUNG, I. M. Relationship between phenolic components, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. **J. Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 4802–4809, 2007.

KNIEVEL, D. C.; ABDEL-AAL, E. S. M.; RABALSKI, I.; NAKAMURA, T.; HUCL, P. Grain color development and the inheritance of high anthocyanin blue aleurone and purple pericarp in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Cereal Science**, v. 50, p. 113–120, 2009.

KOGA, K.; TACHIHARA, S.; SHIRASAKA, N.; YAMADA, Y.; KOSHIMIZU, S. I. Profile of non-volatiles in whisky with regard to superoxide dismutase activity. **Journal of Bioscience and bioengineering**, v. 112, p.154-158, 2011.

KONG, J. M.; CHIA, L. S.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v. 64, p. 923–933, 2003.

KRAUSS, G.; FORTH, M. Influence of different fermentation methods on the formation of lower free fatty acids. **Proc. Am. Sci. Brew. Chem.**, v. 33, p. 37-41, 1975.

KUMAZAWA, K.; MASUDA, H. Identification of potent odorants in different green tea varieties using flavor dilution technique. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 5660–5663, 2002.

KWON, S. H.; AHN, I. S.; KIM, S. O.; KONG, C. S.; CHUNG, H. Y.; DO, M. S.; PARK, K. Y. Anti-obesity and hypolipidemic effects of black soybean anthocyanins. **J. Med. Food.**, v. 10, p. 552–556, 2007.

LANG, J. W. Blending for sale and consumption. In PIGGOTT, J. R. **Flavour of distilled beverage – origins and development**. Chichester, UK: Ellis Horwood, 1983. p. 256–263

LEE, J. C.; KIM, J. D.; HSIEH, F. H.; EUN, J. B. Production of black rice cake using ground black rice and medium-grain brown rice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n.6, p. 1078–1082, 2008.

LEHTINEN, P.; LAAKSO, S. Effect of extraction conditions on the recovery and potency of antioxidants in oat fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4842–4845, 1998.

LEHTONEN, M.; JOUNELA-ERIKSSON, P. Volatile and non-volatile compounds in the flavor of alcoholic beverages. In: PIGGOTTI, J. R. (Ed.). **Flavor of distilled beverages: origin and development**. Flórida: Verlag Chemie, 1983. p. 64-78.

LIANG, D.; MA, J.; WEI, B.; POON, I.O.; BELL, E.C.; BATES, T.R. Determination of inositol hexanicotinate in rat plasma by high performance liquid chromatography with UV detection. **Journal of Chromatography**, v. B 863, p. 172–176, 2008.

LIMA, U. A. Produção nacional de aguardentes e potencialidade dos mercados internos e externo. In: MUTTON, M. J. R.; MUTTON, M. A. (Ed.). **Aguardente de cana: produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p. 54-58.

LIN, J. K.; WENG, M. S.; Flavonoids as nutraceuticals. In: Grotewold, E. (Ed.), **The Science of Flavonoids**. New York (USA): Springer, 2006. p. 213–238,

LING, W. H.; CHENG, Q. X.; MA, J.; WANG, T. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1421–1426, 2001.

LING, W. H.; WANG, L. L.; MA, J. Supplementation of the black rice outer fraction to rabbits decrease atherosclerotic plaque formation and increases antioxidant status. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 20-26, 2002.

LIU, R.H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, v. 46, p. 207–219, 2007.

LU, Z.; KOU, W.; DU, B.; WU, Y.; ZHAO, S.; BRUSCO, O. A.; MORGAN, J. M.; CAPUZZI, D. M. Effect of Xuezhikang, and extract from red yeast Chinese rice, on coronary events in a Chinese population with previous myocardial infarction. **The American Journal of Cardiology**, v.101, p. 1689–1693, 2008.

MAARSE, H.; VISSCHER, C. A. Volatile Compounds in Food, Qualitative Data, Supplement 2. **Food Analysis Institute**, p. 66.1, 1985.

MAHATHEERANONT, S.; KEAWSA-ARD, S.; DUMRI, K. Quantification of the rice aroma compound, 2-acetyl-1-pyrroline, in uncooked Khao Dawk Mali 105 brown rice. **J. Agric. Food Chem.**, v.49, p. 773–779, 2001.

MAILLARD, M. N.; SOUM, M. H.; BOIVIN, P.; BERSET, C. Antioxidant activity of barley and malt, relationship with phenolic content. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 29, p. 238-244, 1996.

MAIORELIA, B. L.; WILKE, C. R.; BLANCH, H. W. Alcohol production and recovery. **Adv. Biochem. Eng.**, v. 20, p. 43-49, 1981.

MANN, L. B.; FOLTS, J. D. Effects of ethanol and other constituents of alcoholic beverages on coronary heart disease: a review. **Pathophysiology**, v.10, p. 105–112, 2004.

MARUYAMA, E.; HIGASHI, K.; KAJITA, T. The relation between physicochemical characteristics and the palatability evaluation. **Journal of Home Economics of Japan**, v. 34, p. 819–825, 1983.

MATSUZAKI, A.; TAKANO, T.; SAKAMOTO, S.; KUBOYAMA, T. Relation between eating quality and chemical components in milled rice and amino acid contents in cooked rice. **Japanese Journal of Crop Science**, v. 61, p. 561–567, 1992.

McELIGOT, A. J.; YANG, S.; MEYSKENS, F. L. Jr. Redox regulation by intrinsic species and extrinsic nutrients in normal and cancer cells. **Annual Review of Nutrition**, v. 25, 261–295, 2005.

MERRITT, N. R. Influence of temperature on some properties of yeast. **J. Inst. Brew.**, v. 72, p. 374-383, 1966.

MOLDAVSKI, N.; COHEN, S. Determinants of liposome partitioning in aqueous two-phase systems: evaluation by means of a factorial design. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 52, p. 529-537, 1996.

MOORE, R. D.; PEARSON, T. A. Moderate alcohol consumption and coronary artery disease: a review. **Medicine (Baltimore)**, v. 65, n. 4, p.242–267, 1986.

MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. 6^a ed. Campinas: FEA-UNICAMP, 1989. 73 f.

MORITA, T.; OH-HASHI, A.; TAKEI, K.; IKAI, K.; KASAOKA, M.; KIRIYAMA, S. Cholesterol-lowering effects of soybean, potato and rice proteins depend on their low methionine contents in rats fed a cholesterol-free purified diet. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 470–477, 1997.

MOSKAUG, J. O.; CARLSEN, H.; MYHRSTAD, M. C. W.; BLOMHOFF, R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 277S–283S, 2005.

MOST, M. M.; TULLEY, R.; MORALES, S.; LEFEVRE, M. Rice bran oil, not fiber, lowers cholesterol in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 64–68, 2005.

MUNROE, J. H. Fermentation. In: HARDWICK, W.A. **Handbook of brewing**: New York: Marcel Dekker, 1994. p. 323-353.

MUNZEL, T.; SINNING, C.; POST, F.; WNHOLTZ, A.; SCHULZ, E. Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. **Annals of Medicine**, v. 40, p. 180–196, 2008.

MURRAY, J. **Jim Murray's complete book of whisky**. Spain, Edited Carlton Books Ltd., 1997.

NAM, S. H.; CHOI, S. P.; KANG, M. Y.; KOH, J. H.; KOZUKUE, N.; FRIEDMAN, M. Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars. **Food Chemistry**, v. 94, p. 613–620, 2006.

NAM, Y. J.; NAM, S. H.; KANG, M. Y. Cholesterol-lowering efficacy of unrefined bran oil from the pigmented black rice (*Oryza sativa* L cv. Suwon 415) in hypercholesterolemic rats. **Food Science and Biotechnology**, 17(3), p. 457–463, 2008.

NEWELL, G. J.; MACFARLANE, J. D. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 6, p. 1721–1725, 1987.

NEWMAN, R. K.; NEWMAN, C. W. Barley for Food and Health. **Cereal Foods World**, v. 36, p. 800-805, 1991.

NICOL, D. Batch distillation. In: PIGGOTT, J. R. SHARP, R.; DUNCAN, E. B. (ed.). **The science and technology of whiskies**. London: Longman, 1989. p. 118.

NISHIMURA, K.; MATSUYAMA, R. Maturation and maturation chemistry. In: **THE SCIENCE and technology of whiskies**. Ed. by Piggott, J. R.; Sharp, R.; Duncan, R. E.B. London: Longman, 1989. p. 235–263.

NÓBREGA, I. C. C.; OLIVEIRA, S. P. A.; MONAKHOVA, Y. B.; PEREIRA, E. V. S.; ARAÚJO, A. C. P.; TELLES, D. L.; SILVA, M.; LIMA, V. L. A. G.; LACHENMEIER, D. W. Chemical composition of whiskies produced in Brazil compared to international products. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, n. 109, p. 145-149, 2013.

NORSTEDT, C.; BERGTSSON, A.; BENNET, I.; LINDSTROM, I.; AYARAPAA, T. Technical measures to control the formation of esters during beer fermentation. **Proc. Of the Congress of the European Brewery Convention**, v. 15, p. 581-600, 1975.

OKI, T.; MASUDA, M.; KOBAYASHI, M.; NISHIBA, Y.; FURUTA, S.; SUDA, I.; SATO, T. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 7524–7529, 2002.

OLIVEIRA, S. P. A. **Níveis de congêneres, carbamato de etila e outros contaminantes em runs e uísques de consume popular no Brasil.** 2012. 87 p. Dissertação (Mestrado) Recife, 2012.

OZBEN, T. Oxidative stress and antioxidants in aging. **Life Behav Sci**, v. 358, p. 99–115, 2004.

PANDEY, A. Glucoamylase research s an overview. **Starch-Stärke**, v. 47, p. 439–445, 1995.

PANEK, R. J.; BOUCHER, A. R. **The science and technology of whiskies.** Ed. by Piggott, J. R.; Sharp, R.; Duncan, R. E.B. London: Longman,1989. p. 167.

PARRADO, J.; MIRAMONTES, E.; JOVER, M.; MARQUEZ, J. C.; MEJIAS, M.; COLLANTES DE TERAN, L. Prevention of brain protein and lipid oxidation elicited by a water soluble oryzanol enzymatic extract derived from rice bran. **European Journal of Nutrition**, v. 42, p. 307–314, 2003.

PARRADO, J.; MIRAMONTES, E.; JOVER, M.; GUTIERREZ, J. F.; COLLANTES DE TERAN, L.; BAUTISTA, J. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. **Food Chemistry**, 98, p. 742–748, 2006.

PHILP, J. M. In: SYMPOSIUMON MALTING, BREWING AND DISTILLING, 2, 1986, **London Proceedings.** Aviemore, UK: Institute of Brewing, London, 1986. p. 148.

PIGGOTT, J. R.; JARDINE, S. P. Descriptive sensory analysis of whisky flavor. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 85, n. 2, p. 82-85, 1979.

PIGGOTT, J. R.; CONNER, A. J. M.; PATERSON, A. Flavor development in whisky maturation. In: CHARALAMBOUS. G. (Ed.). **Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence.** Amsterdam: Elsevier Science BV, 1995. p. 1731-1766.

PIGGOTT, J. R.; CONNER, J. M. **Whisky, whiskey and bourbon: Composition and Analysis of Whisky.** In: **ENCYCLOPEDIA of Food Sciences and Nutrition.** Boston: Editora Academic Press, 2003a. p. 6178-6183.

PIGGOTT, J. R.; CONNER, J. M. Whiskies. In: LEA, A. G. H.; PIGGOTT, J. R. (Ed.) **Fermented beverage production.** 2nd ed. New York: Klumer Academic, 2003b. Cap. 11, p. 239-262.

PINHEIRO, S. H. M. **Avaliação sensorial das bebidas aguardente de cana industrial e cachaça e cachaça de alambique.** 2010. 129 p.Tese (Doutorado)- Viçosa, MG, 2010.

PORTO, C. D.; CALLIGARIS, S.; CELOTTI, E.; NICOLI, M. C. Antiradical properties of commercial cognacs assessed by the DPPH Test. **J. Agric. Food Chem.**, n. 48, p. 4241–4245, 2000.

QUE, F.; MAO, L.; PAN, X. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. **Food Research International**, v. 39, p. 581–587, 2006.

RAMSAY, C. M.; BERRY, D. R. Effect of temperature and pH on the formation of higher alcohols, fatty acids and esters in the malt whisky fermentation. **Food Microbiology**, v. 1, p. 117-121, 1984.

REAZIN, G. H. Chemical mechanisms of whisky maturation. **American J. of enol. And Viticulture**, v. 32, p. 283-289, 1981.

REID, K. J. & WARD, A. Evaporation losses from traditional and racked warehouses. In **Aviemore conference on malting, brewing and distilling**, 4., 1994. London: Institute of Brewing, 1994. p. 319-322.

REVILLA, A.; MIRAMONTES, C. S. M.; BAUTISTA, J.; GARCIA-MARTINEZ, A.; CREMADES, O.; CERT, R.; PARRADO, J. Nutraceutical composition, antioxidant activity and hypocholesterolemic effect of a water-soluble enzymatic extract from rice bran. **Food Research International**, v. 42, p. 387-393, 2009.

RIMM, E. B. Alcohol consumption and coronary heart disease: good habits may be more important than just good wine. **Am. J. Epidemiol.**, v. 143, n. 11, p. 1094-1098, 1996.

RIMM, E. Alcohol and coronary heart disease: can we learn more? **Epidemiology**, v.12, n.4, p. 380-382, 2001.

ROBERTS, R.; STEWART, A. F.; WELLS, G. A.; WILLIAMS, K. A.; KAVASLAR, N.; McPHSON, R. Identifying genes for coronary artery disease: An idea whose time has come. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 23, p. 7A-15A, 2007.

ROGGERO, J. P.; ARCHIER, P.; COEN, S. Chromatography of phenolics in wine. In: **WINE: nutritional and therapeutic benefits**. Washington, D.C: American Chemical Society, 1997. ACS Symposium Series 661.

ROSEFL, C. M.; MARCO, C. Rice. In: **GLUTEN-Free Cereal Products and Beverages**, New York: Ed. Elsevier, 2008. Cap. 4, p.81-96.

RUSSEL, I.; STEWART, G.; BAMFORTH, C. **Whisky: technology, production and marketing**. New York. Ed. Elsevier, 2003. 349 p.

RYU, S. N.; PARK, S. Z.; HO, C. T. High performance liquid chromatographic determination of anthocyanin pigments in some varieties of black rice. **J. Food Drug Anal.**, v. 6, p. 729-736, 1998.

SAMAHA, F. F.; FORSTER, G. D.; MAKRIS, A. P. Low-carbohydrate diets, obesity, and metabolic risk factors for cardiovascular disease. **Current Atherosclerosis Report**, v. 9, p. 441-447, 2007.

SANTOS, C. D. O. **Avaliação do emprego do arroz preto (*Oryza sativa L.*) submetido à hidrólise enzimática como adjunto na fabricação de cerveja**. Dissertação (Mestrado na área de Biotecnologia Industrial) – Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena, Lorena, 75 p. 2011.

SASAKI, R.; NISHIMURA, N.; HOSHINO, H.; ISA, Y.; KADOWAKI, M.; ICHI, T.; TANAKA, A.; NISHIUMI, S.; FUKUDA, I.; ASHIDA, H.; HORIO, F.; TSUDA, T. Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to down regulation of retinol binding protein 4 expression in diabetic mice. **Biochem. Pharmacol.**, v. 74, p. 1619–1627, 2007.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073S–2085S, 2000.

SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T.; SALTMARSH, M. Polyphenols: antioxidants and beyond. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 215S–217S, 2005.

SCHEWE, T.; STEFFEN, Y.; SIES, H. How do dietary flavanols improve vascular function? A position paper. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 476, p. 102–106, 2008.

SCOTCH WHISKY ASSOCIATION. **Scotch Whisky** Disponível em: <<http://www.scotch-whisky.org.uk/SCOTCHWHISKYASSOCIATION/files/Exports2010.pdf>>. Acesso em: 06 jan. 2011.

SCOTCH WHISKY ASSOCIATION. **UK: FY Scotch whisky exports hit Record high.** Disponível em: <http://www.just-drinks.com/news/fy-scotch-whisky-exports-hit-record-high_id106689.aspx>. Acesso em: 21 maio 2012.

SCOTCH WHISKY ASSOCIATION. **Scotch Whisky Exports Hit Record Level.** Disponível em: <<http://www.scotch-whisky.org.uk/news-media/media-press/publications/publication/2030/scotch-whisky-exports-hit-record-level/>>. Acesso em: 26 abril 2013.

SERFANI, M.; GHISELLI, A.; FERRO-LUZZI, A. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. **Eur. J. Clin. Nut.**, v. 50, p. 28-32, 1996.

SHAHIDI, F.; HO, C. T. **Phenolic compounds in foods and natural health products.** Washington, DC: American Chemical Society, 2005.

SHEN, Y., Jin, L., XIAO, P., LU, Y., BAO, J. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**, v. 49, p. 106–111, 2009.

SINGLETON, V. L. Maturation of wines and spirits: comparison, facts and hypotheses. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 46, p. 98-115, 1995.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS; R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SLAVIN, J.; MARQUAT, L.; JACOBS, D. Consumption of whole-grain foods and decreased risk of cancer: proposed mechanisms. **Cereal Foods World**, v. 45, n.1, p. 54–58, 2000.

SOMPONG, R.; SIEBENHANDL-EHN S.; LINSBERGER-MARTIN, G.; BERGHOFER. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. **Food Chemistry**, 124, p. 132–140, 2011.

STANLEY, L. L.; MAZIER, M. J. P. Potential explanations for the French paradox. **Nutrition Research**, v.19, p. 3–15, 1999.

STINTZING, F. C.; CARLE, R. Functional properties of anthocyanidins and betalains in plants, foods, and in human nutrition. **Trends in Food Sci. Technol.**, v. 15, p. 19–38, 2004.

STIRK, D. **The malt whisky guide**. Local: Basingstoke. Editora GW, 2002. p. 27.

STONE, H.; SIDEL, J. L.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, n. 11, v. 28, p. 24-34, 1974.

SUN, A. Y.; SIMONY, A.; SUN, G. Y. The “French paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, p. 314–318, 2002.

SUPERFOODS part VII, may 2011. Disponível em: <<http://ahintofgreens.blogspot.com.br/2011/05/superfoods-part-vii.html>>. Acesso em: 06 jun. 2011.

SUZUKI, M.; KIMURA, T.; YAMAGISHI, K.; SHINMOTO, H.; YAMAKI, K. Comparison of mineral contents in 8 cultivars of pigmented brown rice. **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, v.51, n.8, p. 424–427, 2004.

SCOTCH WHISKY ASSOCIATION, J. S.; HOWIE, D.; BURTLES, S. M.; WILLIAMS, A. A.; LEWIS, M. J. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **The Quality of Foods and Beverages**. New York: Elsevier, 1981, p. 16-22.

TAGLIAFERRI, E.G.; BONETTI, G.; BLAKE, C.J. Ion chromatographic determination of inositol in infant formulae and clinical products for enteral feeding. **Journal of Chromatography**, v. A 879, p. 129–135, 2000.

TAJIMA, M.; KATO, M.; IIZUKA, T. Malto-oligosaccharides extracted from cooked rice. **Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology**, 41, p. 339–340, 1994.

TAYLOR, D.G. The importance of pH control during brewing. **Technical Quarterly of the Master Brewers Association of the Americas**, 21, 131-6, 1990.

THAI EXCISE DEPARTMENT. **Statistical Report of the Licensed Wineries and Distilleries in Thailand**. Bangkok: Excise Department, Ministry of Finance, 2004.

TSCHOPE, E. C. **Microcervejarias e Cervejarias. A história, a arte e a tecnologia.** São Paulo, ed. Aden, 2001. 223 p.

TSUDA T.; HORIO, F.; OSAWA, T. Cyanidin 3-O- β -D-glucoside suppresses nitric oxide production during a zymosan treatment in rats. **J. Nutr. Sci. Vitaminol**, 48, p. 305–310, 2002.

TSUJI, H.; KIMOTO, M.; NATORI, Y. Allergens in major crops. **Nutrition Research**, 21, p. 925–934, 2001.

ULLRICH, S. E.; CLANCY, J. A.; ESLICK, R. F.; LANCE, R. C. M. **Journal of Cereal Science**, v. 4, p. 279-285, 1986.

UNITED KINGDOM. Department for Environment, Food and Rural Affairs Scotch whisky. **Guidance On The Scotch Whisky Regulations 2009**. London: December 2009. Disponível em: <<http://archive.defra.gov.uk/foodfarm/food/pdf/sw-draftguid0912.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2010.

VALCHEVA-KUZMANOVA, S.; BORISOVA, P.; GALUNSKA, B.; KRASNALIEV, I.; BELCHEVA, A. Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from Aronia melanocarpa on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. **Exp. Toxicol. Pathol.**, 56, 195–201, 2004.

VAN DER VEEN, M. E.; VEELAERT, S.; VAN DER GOOT, A. J.; BOOM, R. M. Starch hydrolysis under low water conditions: a conceptual process design. **J. Food Eng.**, 75, p. 178–186, 2006.

VAN GHELUWE, G.; CHER, E. C. H.; VALYI, Z. Factors affecting the formation of fusel alcohols during fermentations. **Tech. Quart. Master Brewers' Ass. Am.** 112, p. 169-175, 1975.

VANDEPUTTE, G. E.; VERMEYLEN, R.; GEEROMS, J.; DELCOUR, J. A. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behaviour of granular starch. **Journal of Cereal Science**, v. 1, n. 38, p. 43-52, 2003.

WHITEHEAD, T. P.; ROBINSON, D.; ALLAWAY, S.; SYMS, J.; HALE, A. Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. **Clin. Chem.** 41, p. 32-35, 1995.

WILKE, C. R.; YANG, R. D.; SCAMANNA, A. F.; FREITAS, R. P. Raw material evaluation and process development studies for conversion of biomass to sugars and ethanol. **Biotechnol. Bioeng.**, 23, p. 163-183, 1981.

WILKINSON, H. C.; CHAMPAGNE, E. T. Value-added rice products in today's market. **Cereal Foods World**, 49, p. 134-138, 2004.

WONGPORNCHAI, S.; SRISEADKA, T.; CHOONVISASE, S. Identification and quantitation of the rice aroma compound, 2-acetyl-1-pyrroline, in bread flowers (*Vallaris glabra* Ktze). **J. Agric. Food Chem.**, 51, 457–462, 2003.

XIA, X.; LING, W.; MA, J.; XIA, M.; HOU, M.; WANG, Q. An anthocyanin-rich extract from black rice enhances atherosclerotic plaque stabilization in apolipoprotein E deficient mice. **The Journal of Nutrition**, 136, p. 2220–2225, 2006.

YANG, D. S.; LEE, K. S.; JEONG, O. Y.; KIM, K. J.; KAYS, S. J. Characterization of Volatile Aroma Compounds in Cooked Black Rice. **J. Agric. Food Chem.**, 56, p. 235–240, 2008.

YAWADIO, R.; TANIMORI, S.; MORITA, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. **Food Chemistry**, 101(4), p. 1616–1625, 2007.

YOKOYA, F. **Fabricação da aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologias “André Tosello”, 92 p. 1995.

ZENG, Z.; ZHANG, H.; CHEN, J. Y.; ZHANG, T.; MATSUNAGA, R. Flavor volatiles of rice during cooking analyzed by modified headspace SPME/GC–MS. **Cereal Chemistry**, 85, p. 140–145, 2008.

ZHANG, Z. X.; WU, G. J. The brewing technology development of yellow wine. **Liquor Making**, v. 13, p. 45–47, 1999.

ZHANG, M. W.; GUO, B. J.; PENG, Z. M. Genetic effects on Fe, Zn, Mn and P contents in Indica black pericarp rice and their genetic correlations with grain characteristics. **Euphytica**, 135, p. 315–323, 2004.

ZHANG, X. S. How to make distiller’s yeast for Chinese yellow wine. **China Condiment**, 121, p. 33–34, 2004.

ZHANG, M.W.; GUO, B.J.; ZHANG, R.F.; CHI, J.W.; WEI, Z.C.; XU, Z.H., ZHANG, Y.; TANG, X.J. Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. **Agricultural Sciences in China**, v. 5, n. 6, p. 431–440, 2006.

ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELLAND, S.; BLANCHARD, C. The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**, 87, p. 401–406, 2004.

ZHIMLICH, J. A. III; EFFLER, W. T. **Patent US 6,506,430 B1**. 2003.

APÊNDICES

Apêndice 01. Cinética da concentração de células em suspensão no fermentado de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L, com levedura pré-tratada ou não

Os valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão da concentração de células viáveis e não viáveis em suspensão e foram representadas em função do tempo de fermentação das matérias-primas utilizadas em escala de bancada de 15L, com levedura sem pré-tratamento e com levedura pré-tratada a 40°C por uma hora, como descrito no item 4.3.1.

Figura 01.1. (A) Média e desvio padrão das células viáveis em suspensão (cel/mL) e **(B)** média e desvio padrão das células não viáveis em suspensão (cel/mL) da levedura *S. cerevisiae*, durante a fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, com levedura sem pré-tratamento.

Figura 01.2. (A) Média e desvio padrão das células viáveis em suspensão (cel/mL) e **(B)** média e desvio padrão das células não viáveis em suspensão (cel/mL) da levedura *S. cerevisiae*, durante a fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, com levedura pré-tratada a 40°C por uma hora.

Figura 01.3. (A) Média e desvio padrão das células viáveis em suspensão (cel/mL) e (B) média e desvio padrão das células não viáveis em suspensão (cel/mL) da levedura *S. cerevisiae*, durante a fermentação do mosto filtrado de malte de cevada, com levedura sem pré-tratamento.

Figura 01.4. (A) Média e desvio padrão das células viáveis em suspensão (cel/mL) e (B) média e desvio padrão das células não viáveis em suspensão (cel/mL) da levedura *S. cerevisiae*, durante a fermentação do mosto filtrado de malte de cevada, com levedura pré-tratada a 40°C por uma hora.

Apêndice 02. Cinética da concentração de células em suspensão no fermentado de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada produzidos em escala piloto de 125L, com levedura sem pré-tratamento

Os valores experimentais da concentração de células viáveis e não viáveis em suspensão foram representadas em função do tempo de fermentação das matérias-primas utilizadas em escala piloto de 125L, com levedura sem pré-tratamento.

Figura 02.1. (A) Células viáveis em suspensão (cel/mL) e (B) Células não viáveis em suspensão (cel/mL) da levedura *S. cerevisiae*, durante a fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, com levedura sem pré-tratamento.

Figura 02.2. (A) Células viáveis em suspensão (cel/mL) e (B) Células não viáveis em suspensão (cel/mL) da levedura *S. cerevisiae*, durante a fermentação do mosto filtrado de malte de cevada, com levedura sem pré-tratamento.

Apêndice 03. Cinética do consumo de açúcares, variação do pH, crescimento celular e produção de etanol no fermentado de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L, com levedura pré-tratada ou não

Os valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão do consumo de açúcares (extrato aparente), da variação do pH, do crescimento celular e da produção de etanol foram representados em função do tempo de fermentação das matérias primas utilizadas em escala de bancada de 15L, com levedura sem pré-tratamento e com levedura pré-tratada a 40°C por uma hora, como descrito no item 4.3.1.

Figura 03.1. (A) Média e desvio padrão do consumo de açúcares (extrato aparente), da variação do pH, do crescimento celular e da produção de etanol em função do tempo de fermentação, pela levedura *S. cerevisiae*, do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, com levedura sem pré-tratamento e (B) média e desvio padrão do consumo de açúcares (extrato aparente), da variação do pH, do crescimento celular e da produção de etanol em função do tempo de fermentação, pela levedura *S. cerevisiae*, do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, com levedura pré-tratada a 40°C por uma hora.

Figura 03.2. (A) Média e desvio padrão do consumo de açúcares (extrato aparente), da variação do pH, do crescimento celular e da produção de etanol em função do tempo de fermentação, pela levedura *S. cerevisiae*, do mosto filtrado de malte de cevada, com levedura sem pré-tratamento e (B) média e desvio padrão do consumo de açúcares (extrato aparente), da produção de etanol, do crescimento celular e da variação do pH em função do tempo de fermentação, pela levedura *S. cerevisiae*, do mosto filtrado de malte de cevada, com levedura pré-tratada a 40°C por uma hora.

Apêndice 04. Cinética do consumo de açúcares, variação do pH, crescimento celular e produção de etanol no fermentado de quirera de arroz preto IAC-600 e do malte de cevada produzidos em escala piloto de 125L, com levedura sem pré-tratamento

Os valores experimentais do consumo de açúcares (extrato aparente), da variação do pH, do crescimento celular e da produção de etanol foram representados em função do tempo de fermentação das matérias primas utilizadas em escala piloto de 125L, com levedura sem pré-tratamento.

Figura 04.1. Consumo de açúcares (extrato aparente), variação do pH, crescimento celular e produção de etanol em função do tempo de fermentação, pela levedura *S. cerevisiae*, do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, com levedura sem pré-tratamento.

Figura 04.2. Consumo de açúcares (extrato aparente), variação do pH, crescimento celular e produção de etanol em função do tempo de fermentação, pela levedura *S. cerevisiae*, do mosto filtrado de malte de cevada, com levedura sem pré-tratamento.

Apêndice 05. Produtividade volumétrica em etanol no fermentado de quirera de arroz preto IAC-600 e do malte de cevada produzidos em escala piloto de 125L, com levedura sem pré-tratamento

Os valores experimentais do rendimento e da produtividade volumétrica em etanol foram representados em função do tempo de fermentação das matérias primas utilizadas em escala piloto de 125L, com levedura sem pré-tratamento.

Figura 05.1. Valores experimentais do rendimento e da produtividade volumétrica em etanol do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600, utilizando levedura sem pré-tratamento.

Figura 05.2. Valores experimentais do rendimento e da produtividade volumétrica em etanol do mosto filtrado de malte de cevada, utilizando levedura sem pré-tratamento.

Apêndice 06. Valores experimentais dos teores de açúcares fermentescíveis durante a fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 e do mosto filtrado malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L, com levedura pré-tratada ou não

Os valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos teores de açúcares fermentescíveis e foram apresentados em função do tempo de fermentação das matérias primas utilizadas em escala de bancada de 15L, com levedura sem pré-tratamento ou tratada a 40°C por uma hora, como descrito no item 4.3.1.

Tabela 06.1. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos teores de açúcares fermentáveis, em escala de bancada de 15L, durante a fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 $14,91 \pm 0,10^{\circ}\text{P}$, utilizando levedura sem pré-tratamento.

Tempo (h)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)	Maltose (g/L)	Maltotriose (g/L)
0	$6,67 \pm 0,32$	$0,48 \pm 0,01$	$14,53 \pm 0,45$	$25,33 \pm 0,31$
6	$15,02 \pm 1,66$	$0,46 \pm 0,00$	$18,78 \pm 1,27$	$25,86 \pm 0,41$
12	$11,56 \pm 1,18$	$0,43 \pm 0,02$	$23,84 \pm 2,24$	$24,96 \pm 0,09$
18	$8,07 \pm 1,75$	0	$26,17 \pm 2,40$	$24,12 \pm 1,35$
24	$6,49 \pm 0,58$	0	$29,28 \pm 0,79$	$18,17 \pm 0,10$
30	$6,71 \pm 0,48$	0	$32,24 \pm 1,07$	$9,75 \pm 0,28$
36	$6,27 \pm 0,63$	0	$31,31 \pm 0,81$	$2,15 \pm 0,27$
42	$5,58 \pm 0,54$	0	$33,92 \pm 0,09$	0
48	$6,44 \pm 0,37$	0	$34,91 \pm 0,42$	0
54	$5,77 \pm 0,25$	0	$30,94 \pm 1,59$	0
60	$4,65 \pm 0,20$	0	$29,33 \pm 1,50$	0
66	$4,00 \pm 0,21$	0	$26,04 \pm 0,72$	0
72	$5,24 \pm 0,20$	0	$20,25 \pm 0,30$	0
78	$4,34 \pm 0,25$	0	$18,01 \pm 0,20$	0
84	$2,65 \pm 0,14$	0	$12,60 \pm 0,38$	0
90	$2,28 \pm 0,10$	0	$10,47 \pm 0,55$	0

Tabela 06.2. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos teores de açúcares fermentáveis, em escala de bancada de 15L, durante a fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 $14,52 \pm 0,04^{\circ}\text{P}$, utilizando levedura com pré-tratamento.

Tempo (h)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)	Maltose (g/L)	Maltotriose (g/L)
0	$6,72 \pm 0,15$	$0,51 \pm 0,03$	$13,50 \pm 0,41$	$24,43 \pm 0,22$
6	$14,41 \pm 1,11$	$0,45 \pm 0,01$	$18,36 \pm 0,15$	$27,01 \pm 0,45$
12	$10,67 \pm 0,26$	$0,44 \pm 0,01$	$19,66 \pm 0,49$	$25,19 \pm 0,23$
18	$8,17 \pm 0,02$	0	$22,85 \pm 0,68$	$23,56 \pm 0,39$
24	$6,41 \pm 0,12$	0	$30,18 \pm 1,48$	$19,87 \pm 0,26$
30	$6,63 \pm 0,11$	0	$30,90 \pm 1,57$	$12,65 \pm 0,55$
36	$6,29 \pm 0,03$	0	$30,25 \pm 1,66$	$2,24 \pm 0,38$
42	$5,55 \pm 0,10$	0	$31,94 \pm 1,16$	0
48	$6,08 \pm 0,08$	0	$34,08 \pm 0,88$	0
54	$5,54 \pm 0,07$	0	$31,67 \pm 0,44$	0
60	$4,57 \pm 0,26$	0	$28,95 \pm 0,16$	0
66	$3,82 \pm 0,14$	0	$26,17 \pm 0,35$	0
72	$5,23 \pm 0,33$	0	$20,51 \pm 1,43$	0
78	$4,23 \pm 0,23$	0	$17,90 \pm 0,88$	0
84	$2,63 \pm 0,11$	0	$13,66 \pm 0,10$	0
90	$2,27 \pm 0,07$	0	$10,32 \pm 0,71$	0

Tabela 06.3. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos teores de açúcares fermentáveis, em escala de bancada de 15L, durante a fermentação do mosto filtrado de malte de cevada a $15,32 \pm 0,15^{\circ}\text{P}$, utilizando levedura sem pré-tratamento.

Tempo (h)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)	Maltose (g/L)	Maltotriose (g/L)
0	$11,72 \pm 0,58$	$10,60 \pm 1,54$	$87,05 \pm 4,15$	$39,06 \pm 2,17$
6	$10,44 \pm 0,50$	$3,82 \pm 0,16$	$77,29 \pm 2,38$	$11,22 \pm 2,19$
12	$1,33 \pm 0,44$	$1,42 \pm 0,05$	$50,26 \pm 4,90$	$8,56 \pm 0,36$
18	$0,57 \pm 0,11$	$0,67 \pm 0,06$	$14,29 \pm 5,64$	$11,90 \pm 0,79$
24	$0,29 \pm 0,06$	$0,51 \pm 0,09$	$1,74 \pm 2,45$	$14,62 \pm 0,01$
30	$0,22 \pm 0,02$	$0,42 \pm 0,06$	0	$17,91 \pm 0,87$
36	$0,17 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,05$	0	$17,27 \pm 0,23$
42	$0,14 \pm 0,04$	$0,37 \pm 0,02$	0	$16,16 \pm 0,16$
48	$0,12 \pm 0,06$	$0,34 \pm 0,01$	0	$11,44 \pm 0,62$

Tabela 06.4. Valores experimentais obtidos de duas repetições são expressos como média e desvio padrão dos teores de açúcares fermentáveis, em escala de bancada de 15L, durante a fermentação do mosto filtrado de malte de cevada a $15,17 \pm 0,17^{\circ}\text{P}$, utilizando levedura com pré-tratamento.

Tempo (h)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)	Maltose (g/L)	Maltotriose (g/L)
0	$12,44 \pm 1,01$	$12,83 \pm 0,31$	$83,87 \pm 2,02$	$35,09 \pm 0,88$
6	$9,31 \pm 0,80$	$3,75 \pm 0,15$	$79,38 \pm 2,41$	$9,67 \pm 0,34$
12	$1,66 \pm 0,48$	$1,39 \pm 0,26$	$51,92 \pm 1,27$	$11,31 \pm 0,35$
18	$0,93 \pm 0,45$	$0,58 \pm 0,07$	$15,37 \pm 5,52$	$12,34 \pm 0,53$
24	$0,45 \pm 0,10$	$0,43 \pm 0,03$	$2,12 \pm 1,63$	$15,25 \pm 0,99$
30	$0,33 \pm 0,10$	$0,30 \pm 0,01$	0	$16,94 \pm 0,72$
36	$0,28 \pm 0,07$	$0,29 \pm 0,01$	0	$14,75 \pm 0,64$
42	$0,24 \pm 0,07$	$0,28 \pm 0,00$	0	$14,25 \pm 0,64$
48	$0,23 \pm 0,07$	$0,22 \pm 0,02$	0	$9,48 \pm 0,19$

Apêndice 07. Valores experimentais dos teores de açúcares fermentescíveis durante a fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada produzidos em escala piloto de 125L, com levedura sem pré-tratamento

Os valores experimentais dos teores de açúcares fermentescíveis foram discriminados em função do tempo de fermentação das matérias primas utilizadas em escala piloto de 125L, com levedura sem pré-tratamento.

Tabela 07.1. Valores experimentais dos teores de açúcares fermentáveis, em escala piloto de 125L, durante a fermentação do hidrolisado filtrado de quirera de arroz preto IAC-600 a 14,20°P, utilizando levedura sem pré-tratamento.

Tempo (h)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)	Maltose (g/L)	Maltotriose (g/L)
0	7,21	0,52	14,88	25,92
6	16,16	0,47	21,09	26,39
12	10,41	0,44	24,23	24,54
18	8,75	0	27,27	23,93
24	6,25	0	31,65	20,68
30	6,67	0	32,22	13,72
36	6,29	0	32,03	1,97
42	5,42	0	34,35	0
48	6,06	0	35,37	0
54	5,95	0	33,33	0
60	4,91	0	28,64	0
66	3,75	0	25,56	0
72	4,84	0	19,49	0
78	4,05	0	18,17	0
84	2,53	0	13,17	0
90	2,11	0	9,72	0

Tabela 07.2. Valores experimentais dos teores de açúcares fermentáveis, em escala piloto de 125L, durante a fermentação do mosto filtrado de malte de cevada a 15,80°P, utilizando levedura sem pré-tratamento.

Tempo (h)	Glicose (g/L)	Frutose (g/L)	Maltose (g/L)	Maltotriose (g/L)
0	12,41	10,42	90,02	34,12
6	9,19	4,19	80,88	8,56
12	1,25	1,45	50,00	12,08
18	0,64	0,78	17,43	13,76
24	0,35	0,49	2,64	16,23
30	0,25	0,36	0	18,34
36	0,19	0,34	0	17,10
42	0,15	0,28	0	15,04
48	0,10	0,25	0	10,84

Apêndice 08. Teores de congêneres e contaminantes nos destilados alcoólicos simples de quirera de arroz preto IAC-600 e de malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L e em escala piloto de 125L, com levedura pré-tratada ou não

Tabela 08.1. Teores dos congêneres e contaminantes encontrados nos destilados alcoólicos simples de quirera de arroz preto IAC-600.

Componentes	Unidade	VMP	1	2	3
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100mL de álcool anidro	150	6,0	3,9	8,4
Álcool metílico	mg/100mL de álcool anidro	20	4,0	5,4	2,8
Alcoóis superiores	mg/100mL de álcool anidro	300	254	251	319
Aldeído, em acetaldeído	mg/100mL de álcool anidro	20	2,8	4,5	11
Chumbo	µg/L	200	8,0	8,0	17
Cobre	mg/L	5,0	8,7	3,2	1,5
Ésteres, em acetato de etila	mg/100mL de álcool anidro	150	5,4	5,4	17
Furfural	mg/100mL de álcool anidro	5,0	1,2	1,1	1,2
Somatório dos congêneres	mg/100mL de álcool anidro	100 ^a	278	265	355

1 - Destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 obtido do fermentado com levedura com pré-tratamento em escala de bancada

2 - Destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 obtido do fermentado com levedura sem pré-tratamento em escala de bancada

3 - Destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 obtido do fermentado com levedura sem pré-tratamento em escala piloto de 125L

VMP – valor máximo permitido de acordo com a Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

^a – mínimo exigido pela Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

Tabela 08.2. Teores dos congêneres e contaminantes encontrados nos destilados alcoólicos simples de malte de cevada.

Componentes	Unidade	VMP	1	2	3	4
Acidez volátil, em ácido acético	mg/100mL de álcool anidro	150	4,3	4,2	8,4	66
Álcool metílico	mg/100mL de álcool anidro	20	2,0	3,5	4,3	7,0
Alcoóis superiores	mg/100mL de álcool anidro	300	234	290	354	360
Aldeído, em acetaldeído	mg/100mL de álcool anidro	20	1,5	2,5	3,4	9,0
Chumbo	µg/L	200	8,0	8,0	22	9,3
Cobre	mg/L	5,0	3,1	2,8	0,8	1,2
Ésteres, em acetato de etila	mg/100mL de álcool anidro	150	8,8	10	7,1	13
Furfural	mg/100mL de álcool anidro	5,0	2,6	2,5	11	18
Somatório dos congêneres	mg/100mL de álcool anidro	100 ^a	251	309	384	466

1 - Destilado alcoólico simples de malte de cevada obtido do fermentado com levedura com pré-tratamento em escala de bancada de 15L

2 - Destilado alcoólico simples de malte de cevada obtido do fermentado com levedura sem pré-tratamento em escala de bancada de 15L

3 - Destilado alcoólico simples de malte de cevada obtido do fermentado com levedura sem pré-tratamento em escala piloto de 125L

4 - Destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido obtido do fermentado com levedura sem pré-tratamento em escala piloto de 125L

VMP – valor máximo permitido de acordo com a Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

^a – mínimo exigido pela Instrução Normativa nº15, de 31 de março de 2011 (MAPA)

Apêndice 09. Valores experimentais dos rendimentos e eficiências na hidrólise de quirera de arroz preto IAC-600 e de mosturação de malte de cevada produzidos em escala de bancada de 15L e em escala piloto de 125L, com levedura pré-tratada ou não

Os valores experimentais na escala de bancada de 15L foram obtidos de duas repetições e são expressos como média e desvio padrão, enquanto na escala piloto de 125L foi realizado apenas um experimento (Tabela 09.1 e 09.2).

Tabela 09.1. Valores experimentais dos rendimentos e eficiências nos hidrolisados de quirera de arroz preto IAC-600.

Fermentado	Escala de produção de 15L		Escala de produção de 125L	
	Rendimento	Eficiência	Rendimento	Eficiência
Levedura sem pré-tratamento	64,29 ± 1,88	80,34 ± 2,37	59,00	73,76
Levedura pré-tratada	57,27 ± 0,27	71,58 ± 0,33	-	-

Tabela 09.2. Valores experimentais dos rendimentos e eficiências nas mosturações de malte de cevada.

Fermentado	Escala de produção de 15L		Escala de produção de 125L	
	Rendimento	Eficiência	Rendimento	Eficiência
Levedura sem pré-tratamento	61,27 ± 0,28	81,70 ± 0,40	59,72	79,62
Levedura pré-tratada	60,64 ± 1,36	80,86 ± 1,80	-	-