

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA**

EDUARDO SCANDINARI MANZOLLI

Produção de cerveja utilizando laranja como adjunto de malte

LORENA

2015

EDUARDO SCANDINARI MANZOLLI

Produção de cerveja utilizando laranja como adjunto de malte

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de concentração de Microbiologia Aplicada

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

Edição reimpressa e corrigida

Lorena
2015

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

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Manzolli, Eduardo Scandinari

Produção de cerveja utilizando laranja como
adjunto de malte / Eduardo Scandinari Manzolli;
orientador João Batista de Almeida e Silva - ed.
reimp., corr. - Lorena, 2016.
95 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós
Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de
Microbiologia Aplicada) - Escola de Engenharia de
Lorena da Universidade de São Paulo. 2016
Orientador: João Batista de Almeida e Silva

1. Cerveja. 2. Adjunto de malte . 3. Suco de
laranja. 4. Fcoj. 5. Análise sensorial. I. Título.
II. Almeida e Silva, João Batista de, orient.

*À minha mãe, Maria de Fátima, sempre presente;
Ao meu pai e meus avós, que tiveram de se ausentar,
Mas estão sempre comigo no coração;
À minha namorada que sempre confiou em mim.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor João Batista de Almeida e Silva, por me conceder a oportunidade de realizar esse trabalho, orientação, parceria, amizade e ensinamentos.

Aos professores do Debiq, André, João, Graça, Bernadete, Adriane, Walter, pelos ensinamentos.

À professora Julieta Ueta por me ajudar a encontrar algo que eu goste.

Aos funcionários do Debiq, que possibilitaram a execução do trabalho da forma mais cômoda.

Aos funcionários da oficina que sempre estiveram à disposição para solução de problemas técnicos.

Às moças da limpeza, em especial Sheila e Larissa.

Aos funcionários da biblioteca, pela ajuda na execução desta dissertação.

As meninas da CPG que me auxiliaram em tudo que foi necessário para execução deste trabalho.

Aos colegas da cervejaria, Bruno, Carol, Thales, Raquel Batista, Larissa, Orerves, Yanet, Diogo, Raquel Aizemberg, Waldir, pela companhia, conversas e convivência diária.

Ao Léo e Hemerson, por me auxiliarem no desenvolvimento desse projeto. Sem vocês, tudo teria sido muito mais difícil.

Aos amigos do moranguete, em especial ao Bras, Pará, Lucão, Flávia Caju e Annie, pelos momentos de cervejas e descontração

Aos amigos de Ribeirão Preto, Miriam, Flávia, Andressa, Caio, Gustavo, Letícinha, Poloni, Sandrine, pelos momentos de risadas e descontração.

Aos amigos que fiz em Lorena e que certamente vou levar para a vida, Ricardo, Milena, Bárbara (e Léo) e Dani, vocês certamente me deram forças sempre que necessitei e tornaram a distância da minha família muito mais fácil.

Aos amigos da faculdade, especialmente ao Nojo, que sempre acreditou em meu potencial, mesmo quando ninguém acreditava.

Aos meus sogros e à família da minha namorada, pelos momentos de descanso e excelentes refeições.

A minha amada família por toda a força que me deram e que continuam me dando.

A minha namorada Vanessa, que me ensinou o quão capaz eu posso ser e que não me deixa desistir nunca! Te amo!

A Capes por fornecer a bolsa para esse mestrado.

Ao meu pai e a minha avó, por terem sido exemplos a serem seguidos e que hoje olham por mim lá de cima.

E à Deus, Todo Poderoso, que me guia pelos caminhos mais seguros e ilumina todos os meus passos.

RESUMO

MANZOLLI, E. S. **Produção de cerveja utilizando laranja como adjunto de malte**. 2016. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2016.

O Brasil é atualmente o terceiro maior produtor de cerveja, ficando atrás da China e EUA, respectivamente. Cerveja é uma bebida obtida pela fermentação alcoólica de um mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada, água potável, por ação de levedura e adição de lúpulo. A legislação brasileira vigente, permite, ainda, a adição de adjuntos cervejeiros, que podem ser outros cereais, malteados ou não, além de outras fontes de carboidrato. A utilização dos adjuntos, principalmente o milho e o arroz, tornou-se opções de diminuir o custo no processo de produção de cerveja, bem como possibilitou a produção de cervejas leves e mais palatáveis à população brasileira. Dentre adjuntos não convencionais, destacam-se arroz preto, banana, pupunha, pinhão, cana de açúcar e frutas tropicais. A laranja é uma fruta com alto teor de açúcar e o Brasil é o principal país produtor, motivando assim, a possibilidade de estudar seu uso como adjunto cervejeiro. As principais formas de comercialização de laranja são em forma de suco pasteurizado (NFC) ou suco de laranja concentrado (FCOJ). O presente projeto teve como objetivo a produção de cervejas, em escala de bancada, utilizando suco de laranja como adjunto de malte, tanto na forma NFC como de FCOJ em diferentes proporções (0%, 10%, 25% e 45%). Análises de concentração e viabilidade celular, pH, consumo de extrato e formação de etanol foram realizadas ao longo das fermentações, além de análises sensoriais foram feitas a fim de se estabelecer a melhor proporção para uma produção em maior escala, feita na Planta Piloto de Bebidas da Escola de Engenharia de Lorena (EEL). A partir das análises, a cerveja com 10% de FCOJ foi a escolhida para a produção em escala piloto, onde foi analisada a reprodutibilidade dessa cerveja e uma nova análise sensorial foi feita para comparar a bebida produzida no estudo com bebida produzida comercialmente para definir se o adjunto pode ou não ser utilizado no mercado de cervejas.

Palavras-chave: cerveja, adjunto de malte, suco de laranja, FCOJ, análise sensorial.

ABSTRACT

MANZOLLI, E. S. **Beer production with orange as malt adjunct**. 2016. 95p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2016.

Brazil is today the third world beer producer, after China and United States of America, respectively. Beer is a beverage obtained by alcoholic fermentation of beer wort derived from barley malt, drinking water, yeast action and adding hops. The current Brazilian legislation also allows the addition of brewing adjuncts, which can be other cereals, malted or not, as well as other sources of carbohydrates. The use of adjuncts, especially maize and rice became options to reduce the cost of beer production process and enabled the production of lighter beers and more palatable to the Brazilian population. Among non-conventional adjuncts, it is highlighted black rice, banana, peach palm, pine nuts, sugar cane and tropical fruits. The orange is a fruit with high sugar content and Brazil is the main producer, motivating thus the possibility to study its use as a brewing adjunct. The main forms of marketing are not from concentrated orange juice (NFC), which is pasteurized, or concentrated orange juice (FCOJ). This project aimed the production of beers, bench scale, using orange juice as malt adjunct, both in the NFC way of FCOJ, in different proportions (0%, 10%, 25% and 45%). Analysis of concentration and cell viability, pH, extract consumption and the formation of ethanol were carried out throughout the fermentations, and sensory analyzes were performed in order to establish the best ratio for a larger scale production, made in Lorena School of Engineering (EEL) Beverages Pilot Plant. From the analysis, the beer with 10% FCOJ was chosen for the production on a pilot scale, where the reproducibility of beer and a new sensory analysis was performed to compare the beverage produced in the study with commercially produced beverage was analyzed to determine whether the adjunct may or may not be used in the beer market.

Keywords: beer, malt adjunct, orange juice, FCOJ, sensorial analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de malteação da cevada. Os números representam a quantidade de tempo, em horas, decorrido após o primeiro contato do grão com a água (A) Tempo durante as fases da malteação. (B) Grão de cevada durante os diversos tempos da malteação. (C) Corte longitudinal do grão de cevada, antes, durante e após o processo da malteação. Em: embrião; En.: Endosperma.	26
Figura 2 – Os componentes de um fruto cítrico típico.....	29
Figura 3 – Evolução da produção mundial de suco de laranja e participação brasileira na produção.....	30
Figura 4 – A flor de lúpulo e suas principais estruturas, com destaque às glândulas de lupulina, que contêm as resinas e óleos essenciais.....	32
Figura 5 – Fluxograma da produção de cervejas.	36
Figura 6 – Programação de tempo e temperatura da mosturação.....	47
Figura 7 – Ficha utilizada nos testes de aceitação e intenção de compra durante as análises sensoriais.....	52
Figura 8 - Teste de lodo feito no começo dos diferentes patamares de temperatura (62°C, 72°C e 78°C) durante a mosturação.	56
Figura 9 - Perfil de formação de etanol e consumo de açúcar nas cervejas produzidas. (A) com 45% de suco de laranja, (B) com 45% de FCOJ, (C) com 25% de suco de laranja, (D) com 25% de FCOJ, (E) com 10% de suco de laranja, (F) com 10% de FCOJ.....	60
Figura 10 - Perfil de formação de etanol e consumo de açúcar na cerveja puro malte.	61
Figura 11 - Perfil de formação do etanol durante a fermentação de mostos com diferentes proporções de malte/adjunto.	61
Figura 12 - Números de células totais e viáveis em suspensão durante a fermentação do mosto cervejeiro sem adição de adjunto de malte.	62
Figura 13 - Números de células totais e viáveis em suspensão durante a fermentação dos mostos cervejeiros complementados com (A) 45% de suco de laranja, (B) 45% de FCOJ, (C) 25% de suco de laranja, (D) 25% de FCOJ, (E) 10% de suco de laranja e (F) 10% de FCOJ.....	64

Figura 14 - Representação espacial das médias de cada atributo, obtidas a partir do teste de aceitação para cada bebida produzida.	68
Figura 15 - Amostras servidas durante a análise sensorial foram codificadas e servidas com água e bolacha.	69
Figura 16 - Cerveja produzida em escala de bancada utilizando laranja como adjunto de malte.	69
Figura 17 - Comparação entre a cinética de fermentação das cervejas produzidas em escala de bancada e escala piloto.	72
Figura 18 - Crescimento celular e viabilidade durante o processo fermentativo da cerveja feita em escala piloto.	73
Figura 19 - Cerveja produzida em escala piloto utilizando concentrado de laranja como adjunto de malte.	74
Figura 20 - Representação espacial das médias de cada atributo, obtidas a partir do teste de aceitação para a bebida produzida em escala piloto e duas cervejas comerciais, sendo a Comercial A uma cerveja comum e a Comercial B uma cerveja extra.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais países produtores de cerveja no mundo em 2012 e 2013 (em milhões de hL).....	22
Tabela 2 – Análise de águas de famosos centros cervejeiros	24
Tabela 3 – Temperaturas de ativação das enzimas presentes no malte de cevada.	38
Tabela 4 – Características físico-químicas da água utilizada para produção de cerveja pela Microcervejaria da Escola de Engenharia de Lorena.....	44
Tabela 5 – Valores de taxa de isomerização do lúpulo em pellet de acordo com o tempo de fervura.	49
Tabela 6 - Análises de Brix e pH do suco de laranja pasteurizado utilizado em cada um dos mostos.....	54
Tabela 7 - Características dos mostos produzidos	55
Tabela 8 - Análises físico-químicas de todas as cervejas produzidas ao final da fermentação.	57
Tabela 9 - Notas de aceitação em análise sensorial das diferentes bebidas obtidas, puro malte e com diferentes proporções de suco e concentrado de laranja.	66
Tabela 10 - Características do mosto produzido em escala piloto.....	71
Tabela 11 - Análises físico-químicas da cerveja produzida, utilizando a Planta Piloto de Bebidas da Faculdade de Engenharia de Lorena, ao final da fermentação.	73
Tabela 12 - Notas de aceitação em análise sensorial das diferentes bebidas, sendo uma produzida em escala piloto e as outras duas amostras comerciais.	75
Tabela 13 - Produtividade e tempo de fermentação das cervejas produzidas com diferentes quantidades de adjunto de malte.	77

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1	Aspectos históricos da produção de cerveja.....	19
2.2	Legislação.....	22
2.3	Matéria-Prima para a produção de cerveja.....	23
2.3.1	Água.....	23
2.3.2	Malte de cevada.....	24
2.3.3	Adjuntos.....	26
2.3.3.1	Laranja.....	28
2.3.3.1.1	Aspectos da produção e mercado.....	29
2.3.4	Lúpulo.....	31
2.3.5	Levedura.....	33
2.3.5.1	Metabolismo da levedura.....	34
2.4	Processo de produção de cerveja.....	35
2.5	Análise sensorial.....	40
3	OBJETIVOS.....	42
3.1	Objetivo geral.....	42
3.2	Objetivos específicos.....	42
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	43
4.1	Material.....	43
4.1.1	Água.....	43
4.1.2	Malte.....	44
4.1.3	Lúpulo.....	44
4.1.4	Laranja.....	45
4.1.5	Concentrado de Laranja.....	45

4.1.6	Levedura	45
4.2	Métodos	45
4.2.1	Obtenção do suco de laranja	45
4.2.2	Análise do Concentrado de Laranja	46
4.2.3	Ensaio	46
4.2.4	Moagem do malte	46
4.2.5	Mosturação	46
4.2.6	Clarificação do mosto.....	48
4.2.7	Fervura do mosto	48
4.2.8	Resfriamento do mosto	49
4.2.9	Fermentação e maturação	49
4.2.10	Envase e carbonatação	50
4.2.11	Concentração celular	50
4.2.12	Análises físico-químicas.....	50
4.2.13	Análise sensorial	51
4.2.14	Produção em escala piloto	52
4.2.15	Análises estatísticas.....	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1	Extração do suco de laranja	54
5.2	Análise de Brix do concentrado de laranja	54
5.3	Produção dos mostos em escala de bancada	55
5.4	Acompanhamento da fermentação dos mostos.....	57
5.5	Análise sensorial das cervejas obtidas em escala de bancada	65
5.5.1	Caracterização dos provadores	65
5.5.2	Aceitação e intenção de compra	65
5.6	Produção em escala piloto	70
5.6.1	Produção do mosto	70

5.6.2	Acompanhamento da fermentação.....	71
5.6.3	Análise sensorial	74
5.7	Produtividade em etanol	76
6	CONCLUSÃO	79
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	80
	REFERÊNCIAS.....	81
	APÊNDICES	92

1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais antigas, sendo produzida há aproximadamente 9000 anos, quando povos da Mesopotâmia acidentalmente deixaram grãos de cevada ao relento, o que possibilitou a germinação dos grãos e posterior fermentação alcoólica espontânea da massa obtida. A civilização do Egito antigo teve grande importância sobre o aperfeiçoamento na produção da bebida, utilizando aromatizantes para mascarar os sabores, os quais seriam gradativamente substituídos pela flor de lúpulo durante a Idade Média. (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010; JACKSON, 2010; BELTRAMELLI, 2012).

A cerveja, por definição, é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, preparado com malte de cevada, água e lúpulo pela ação de levedura (BRASIL, 2009). Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, com cerca de 135,5 milhões de hectolitros produzidos em 2013, atrás da China e Estados Unidos (HEINRICH MEIER, 2014).

A cerveja, do ponto de vista nutricional, possui quantidades significativas das vitaminas do complexo B, principalmente folatos e riboflavina, e selênio, além de possuir capacidade antioxidante, inferior à do vinho tinto, ainda que diferente, devido à diferente composição do malte e lúpulo das uvas (LUGASI, 2003).

A legislação brasileira permite a adição de adjuntos ao mosto cervejeiro contanto que não seja superior a 45% em relação ao extrato primitivo (BRASIL, 2001). Atualmente, os adjuntos mais utilizados pelas grandes cervejarias são o milho e o arroz, os quais são fontes fáceis e baratas de açúcar em relação ao malte de cevada. No entanto, na busca de agregar valor à bebida, principalmente às características sensoriais, têm-se experimentado o uso de outros produtos como adjuntos, de acordo com o seu custo-benefício. O grupo de pesquisa da Escola de Engenharia de Lorena (EEL) tem se dedicado ao uso de adjuntos não convencionais na produção de cerveja, como arroz preto, pupunha, pinhão, caldo de cana e frutas tropicais, como a banana e a laranja.

O mercado brasileiro de frutas cítricas envolve tanto os tipos de mesa, como Bahia, Lima e Tangerinas, quanto laranjas próprias para a produção de suco, como Pêra, Natal, e Valência, as quais tem maior disponibilidade no mercado interno (CITRUSBR, 2012).

Tendo em vista que o suco de laranja possui, segundo dados da CitrusBR (2012), entre 10-11°Brix, uma considerável quantidade de açúcar, que o Brasil é um dos maiores produtores, e que o mercado de exportação se encontra em tendência de queda, a sua utilização como adjunto de malte pode ser uma alternativa para os grãos atualmente utilizados no mercado cervejeiro, otimizando a utilização da fruta, com baixo preço, no mercado interno.

No presente estudo, o suco de laranja foi utilizado de duas formas para a produção da cerveja em escala de bancada: inicialmente na forma de suco com 10-11° Brix e, então, concentrado a 65° Brix, a principal forma de armazenamento e de manuseio para o processo cervejeiro, também muito utilizado no processamento para a exportação do produto (FAO, 2012). Análises físico-químicas durante a fermentação e análises sensoriais foram feitas para determinar a melhor cerveja e produzi-la em escala piloto.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos históricos da produção de cerveja

A história da cerveja data de aproximadamente 9000 anos atrás quando grãos de cevada germinados acabaram sendo esquecidos na chuva e fermentados espontaneamente por leveduras selvagens na região do crescente fértil, entre os rios Tigres e Eufrates, na mesopotâmia. Desde então, diversas descobertas levaram a evolução da civilização e, conseqüentemente, do processo de produção das bebidas fermentadas, sendo base da alimentação de diversas civilizações antigas, como gregos e romanos. Estes povos utilizavam da fermentação de uvas para produção do vinho e os sumérios, babilônicos, egípcios e bárbaros, fabricavam uma bebida fermentada de malte de cevada aromatizada com diversas ervas, mel, raízes ou frutas, que veio a dar origem a cerveja. Na antiguidade, enquanto o processo de fermentação ainda era um enigma, a cerveja era muito associada à funções medicinais, alimentação e divindades (BELTRAMELLI, 2012).

Foi na Idade Média que o lúpulo foi inserido à receita da cerveja, a partir dos estudos de Santa Hildegarda von Bingen, substituindo o *gruit*, uma mistura de ingredientes que eram responsáveis por dar o aroma para a cerveja. Santa Hildegarda estudou e publicou em um de seus livros, *Liber subtilitatum diversarum naturarum creaturarum*, o Livro das propriedades das várias criaturas da natureza, sobre as propriedades conservantes e medicinais do lúpulo. A substituição do *gruit* pelo lúpulo foi gradualmente atingindo toda a Europa, com ápice em 1516, pela promulgação da *Reinheitsgebot*, ou Lei de Pureza da Baviera, na Alemanha, forçando os produtores de cerveja utilizarem como ingredientes únicos na cerveja a água, lúpulo e malte de cevada (DELOS, 2008; BELTRAMELLI, 2012).

Foi também na Europa, que cervejeiros, buscando maior constância em suas receitas, passaram a investir em pesquisas que identificaram as leveduras responsáveis pela fermentação e separaram linhagens específicas para diferentes tipos de cerveja, dando origem a dois grandes grupos da bebida: as cervejas de alta fermentação, também chamadas de *Ale*, e as de baixa fermentação, denominadas *lager* (BELTRAMELLI, 2012). Dentre as pesquisas que foram

incentivadas para melhorar a fabricação da cerveja, destacam-se as de Louis Pasteur, que buscava compreender os mecanismos da fermentação alcoólica e tentativa de proteger a cerveja contra contaminações através da higiene rigorosa das fábricas e da pasteurização; de Emil C. Hansen, que conseguiu separar as primeiras linhagens de leveduras; e de Carl Von Linde, que em 1894, começou a desenvolver o primeiro sistema de refrigeração artificial, à pedido da cervejaria irlandesa Guinness (ANDERSON, 2006; DELOS, 2008; JACKSON, 2010; BELTRAMELLI, 2012).

Com tanto investimento em pesquisas e produção, a cerveja deixou de ser uma bebida produzida em pequena escala, passando a ser produzida em grandes fábricas que priorizavam a produção do estilo de cerveja conhecido como *Standart American Lager*, uma bebida que possui maior popularidade, baixo custo, acessível e mais lembrada quando o assunto é cerveja. Essas cervejas geralmente possuem ingredientes, também conhecidos como adjuntos, cuja função, além de baratear o custo de produção, é deixar a bebida mais leve para o consumo (ANDERSON, 2006; BELTRAMELLI, 2012).

No Brasil, como na mesopotâmia, um fermentado de cereais já era feito por índios através de milho mastigado e cuspidado, que era conhecido como *Cauym*, preparado pelas mulheres (BELTRAMELLI, 2012). Já a cerveja propriamente dita, chegou pela primeira vez ao Brasil através da Companhia Holandesa das Índias Ocidentais nas cidades de Olinda e Recife, durante a ocupação de Maurício de Nassau (1604-1679), quando o cervejeiro Dirck Dicx, montou uma planta de uma cervejaria em 1640, no Recife, que durou até o fim da ocupação holandesa em 1654 quando a planta foi desmontada e levada para onde hoje fica a cidade de Nova Iorque, nos Estados Unidos da América (MORADO, 2009; BELTRAMELLI, 2012).

Em 1808, com a chegada da família real portuguesa ao Brasil, e consequente abertura dos portos, principalmente à Inglaterra, cervejas europeias passaram a ser trazidas ao Brasil, fazendo com que a população brasileira, enfim, passasse a beber cerveja, além da cachaça e do vinho português, que já eram consumidos na colônia antes da chegada da família real (MORADO, 2009; DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010; BELTRAMELLI, 2012).

Pequenas cervejarias começaram a produzir a bebida tendo registros da Cervejaria Brasileira, no Rio de Janeiro, em 1836; a cervejaria de Henrique Schoenbourg, em São Paulo, em 1840; de Georg Heinrich Ritter, de Nova Petrópolis/RS, em 1846; e outras cervejarias familiares em Joinville, Porto Alegre, Niterói, Petrópolis e Rio de Janeiro (MORADO, 2009; BELTRAMELLI, 2012).

Em 1853, Heinrich Kremer fundou a cervejaria Bohemia que se fundiu em 1961 com a Companhia Antarctica Paulista, fundada em 1888 em São Paulo. Também em 1888, no Rio de Janeiro, foi fundada a Cerveja Brahma Villiger e Companhia, que já com o nome de Companhia Cervejaria Brahma, fundiu-se com a Companhia Antarctica Paulista, em 1999, formando a Companhia de Bebidas das Américas (AmBev). O novo grupo formado associou-se, em 2004, com um grupo belga chamado Interbrew, dando origem a InBev, que, em 2008, adquiriu a norte americana Anheuser-Busch, passando a chamar AB-InBev, a maior produtora de cervejas do planeta, as quais dominam o mercado com marcas como Budweiser, Brahma, e Skol. A AB-InBev, em 2013, produzia 399 milhões de hectolitros, 20,2% da produção global de cerveja (DELOS, 2008; JACKSON, 2010; DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010; BELTRAMELLI, 2012; HEINRICH MEIER, 2014).

Atualmente, o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja no mundo, ficando apenas atrás da China e dos EUA, além disso a produção de cerveja em todo o mundo aumentou em 0,56% entre 2012 e 2013, enquanto que no Brasil esse aumento chegou a 2,03% como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais países produtores de cerveja no mundo em 2012 e 2013 (em milhões de hL)

País	2012	2013
China	490.200	506.500
EUA	230.065	224.093
Brasil	132.800	135.500
Alemanha	94.618	94.365
Rússia	97.600	88.600
México	82.500	82.500
Japão	57.675	57.200
Reino Unido	42.962	42.420
Polônia	39.290	39.560
Espanha	33.031	32.700
África do Sul	31.500	31.500
Vietnã	29.800	31.300
Ucrânia	30.050	27.600
Nigéria	24.000	26.500
Holanda	24.272	24.000
Colômbia	22.550	23.300
Tailândia	23.700	23.100
Venezuela	21.470	22.420
Coreia do Sul	20.313	20.920
Índia	19.500	19.900
Mundo (total)	1.961.974	1.972.972

Fonte: Adaptado de Barth Haas Report (2014)

2.2 Legislação

De acordo com o Decreto 6.871, de 4 de junho de 2009, que foi publicado no Diário Oficial da União e regulamenta a Lei 8.918, de 14 de julho de 1994, a qual dispõe sobre padronização, classificação, registro, inspeção e fiscalização da

produção e o comércio de bebidas, a cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, com ação de levedura e adição de lúpulo, como pode ser visto na seção III, Artigo 36 do decreto. (BRASIL, 2009). Também é regulamentado pelo decreto, a utilização de adjuntos cervejeiros, que são permitidos até quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo. Adjunto cervejeiro é considerado a cevada cervejeira e os demais cereais apropriados ao consumo humano, malteados ou não, bem como amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009).

2.3 Matéria-Prima para a produção de cerveja

A cerveja é uma bebida produzida a partir de água, malte de cevada, que pode ou não ser substituído por adjuntos, lúpulo sobre ação de fermentação alcoólica pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

2.3.1 Água

Durante muito tempo, os fabricantes de cerveja dependiam da qualidade da água local para fabricarem suas cervejas e, por essa razão, regiões com fontes de água de alta qualidade deram origem às cervejas clássicas mais apreciadas do mundo. Diferentes estilos de cervejas utilizam diferentes tipos de água como pode ser observado na Tabela 2, a qual mostra os tipos de água utilizados nos mais famosos centros cervejeiros. Atualmente, com o recurso da química, cervejeiros podem ajustar a água para o estilo de cerveja a ser produzido. Fatores como a dureza, pH e qualidade microbiológica são observadas para o uso da água cervejeira (BRIGGS et. al., 2004; DELOS, 2008; JACKSON, 2010).

A dureza da água exerce uma condição determinante à cor e força da cerveja, sendo que em cervejas mais fortes e escuras, água com maior teor de sais, e portanto, maior dureza, são usadas, enquanto que em cervejas claras e leves, água com menor teor de sais são utilizadas (DIMAS, 2010).

A cerveja é constituída de 90-95% de água, sendo esta, portando a principal matéria prima em um processo cervejeiro, fazendo com que as cervejarias

busquem regiões com composição de água relativamente uniforme e de boa qualidade (JACKSON, 2010; DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010).

Tabela 2 – Análise de águas de famosos centros cervejeiros

Parâmetros	Pilsen	Dortmund	Londres	Viena
Sólidos totais	51	984	320	984
Cálcio	7,1	237	90	163
Magnésio	3,4	26	4	68
Bicarbonatos	14	174	-	243
Carbonatos	-	-	123	-
Sulfatos	4,8	318	58	216
Nitratos	tr.	46	3	tr.
Cloretos	5,0	53	18	39
Sódio	-	-	24	-

tr. : Traços - : Sem dados

Fonte: Adaptado de Briggs et al., 2004

Segundo Kunze (1999), para cada hL de cerveja produzida, 6 hL de água são necessárias para a produção, dividindo como: água cervejeira (2,7 hL), água de processo (2,1 hL), água para usos gerais (1,0 hL) e água para serviços gerais (0,2 hL).

2.3.2 Malte de cevada

Apesar de vários tipos de cereais poderem ser utilizados para a produção de cervejas, como trigo, sorgo, aveia, centeio, milho e arroz, o principal é a cevada, utilizada em sua forma malteada. A cevada é um cereal membro da família das gramíneas e, portanto, uma monocotiledônea, dividida em duas espécies principais: as que possuem duas fileiras ao longo do caule principal (*Hordeum distichon*) e as que possuem seis fileiras ao longo do caule (*Hordeum vulgare*) (PALMER, 2006; DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010; JACKSON, 2010). As

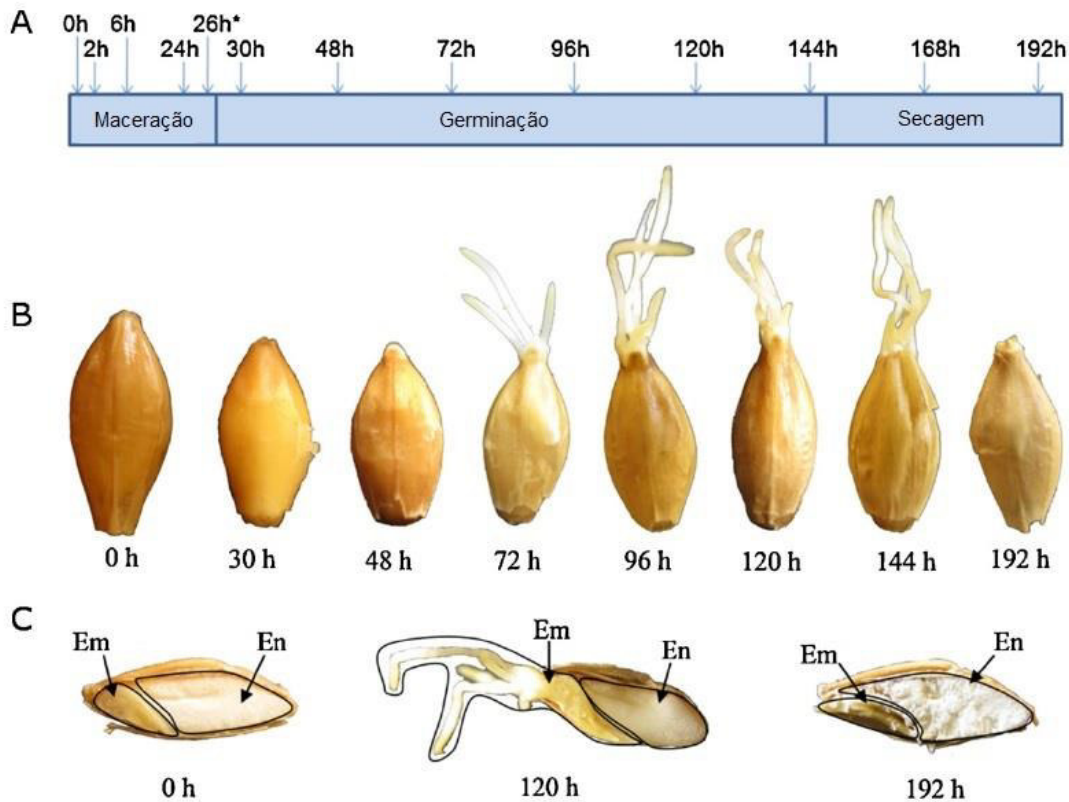
condições climáticas favoráveis para o cultivo de cevada são úmidas, durante o crescimento, e mais secas para o amadurecimento apesar de ser um produto que se adapta muito bem ao ambiente, podendo ser cultivado em diversas condições (BOULTON, 2013).

Para malteação, cevadas de duas fileiras são preferíveis porque, apesar de conter menos grãos, contêm maior quantidade de amido produzido por hectare do que as cevadas de seis fileiras. Cevada com seis fileiras contém maior teor de fibras e proteínas sendo, geralmente, mais utilizadas para alimentação de animais, apesar de também serem utilizadas para fazer cerveja nos EUA (PALMER, 2006; BAMFORTH, 2009; BOULTON, 2013).

O processo de malteação (Figura 1), ao qual o cereal deve passar, consiste na germinação através da umidificação do grão, onde as radículas começam a se desenvolver e enzimas responsáveis pela degradação de amido, proteínas e outras macromoléculas são sintetizadas; e posterior secagem em estufa, na qual existe a queda das radículas. Através dos diferentes graus de secagem, controlados com temperatura e umidade, são produzidos os diferentes tipos de malte. Como exemplo, para o malte tipo Pilsen, o principal utilizado na cerveja, a secagem é feita em condições relativamente mais amenas, porém suficiente para retirar a água, a fim de que as enzimas sejam preservadas. Por outro lado, secagens mais rigorosas produzem maltes mais escuros, responsáveis pela coloração mais escuras de alguns estilos de cerveja, bem como aromas tostados como de chocolate e café (BAMFORTH, 2009; BOULTON, 2013). Por não conterem enzimas, devido à alta temperatura de torrefação, e alta acidez, maltes mais escuros são, raramente, utilizados em níveis superiores a 5% (COGHE et al., 2003; PALMER, 2006).

Diversos cereais podem ser malteados para a produção de cerveja, no entanto, a cevada é o principal grão, devido às menores dificuldades técnicas; alto teor de amido, que resulta em extrato fermentável; quantidade proteica satisfatória para a nutrição da levedura durante a fermentação; o sabor, aroma e corpo característico, geralmente esperados em uma cerveja de boa qualidade; bem como o conteúdo ideal de amilases que se desenvolvem durante a germinação e que são de vital importância para os passos que se seguem na produção da cerveja (CEREDA, 1983; PALMER, 2006; CEPPI; BRENNAN, 2010).

Figura 1 - Esquema de malteação da cevada. Os números representam a quantidade de tempo, em horas, decorrido após o primeiro contato do grão com a água (A) Tempo durante as fases da malteação. (B) Grão de cevada durante os diversos tempos da malteação. (C) Corte longitudinal do grão de cevada, antes, durante e após o processo da malteação. Em: embrião; En.: Endosperma.



Fonte: Adaptado de Gorzolkaa et al., 2012.

2.3.3 Adjuntos

Segundo Boulton (2013), adjuntos são definidos, simplesmente, como fontes de extratos diferentes de malte, podendo eles ser líquidos ou sólidos. Estes podem ser adicionados para fornecer propriedades que não poderiam ser obtidas utilizando somente o malte, como por exemplo, a redução da turbidez, cor mais clara e sabores e aromas mais delicados (POLLOCK, 1979; LEWIS; YOUNG, 1995). No entanto, geralmente, são usados para reduzir custos de produção, quando adjuntos particulares são abundantes em determinadas regiões, como é o caso do arroz na América do Norte, milho no Brasil, ou sorgo não maltado na Nigéria (IIORI, 1991; AGU, 1995; FUMI et al., 2011; BOULTON, 2013). No Brasil, por exemplo, a produção de malte atinge apenas 30% do total consumido; assim,

o emprego de matérias primas nacionais reduz os custos de produção do extrato cervejeiro, contanto que não interfira na qualidade da cerveja (D'AVILA et al., 2012).

De acordo com a legislação brasileira, adjuntos cervejeiros são matérias-primas que substituem parcialmente o malte ou o extrato de malte na elaboração da cerveja, limitando-se o emprego a 45% em relação ao extrato primitivo como foi mostrado por estudo feito por Mardegan et al. (2013). Ainda segundo a legislação, a cevada cervejeira e outros cereais (malteados ou não) apropriados para o consumo humano, podem ser considerados adjuntos. No tocante aos açúcares vegetais, diferente dos provenientes de cereais, a quantidade máxima de açúcar em relação ao extrato primitivo deve ser menor ou igual 10% para cervejas claras e 25% para cervejas escuras (BRASIL, 2001). Em consulta pública recente através da Portaria DAS/MAPA 8/2014, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) pleiteia aumentar a relação de açúcares de origem vegetal não provenientes de cereais ao máximo de 25% tanto para cervejas claras quanto escuras.

Briggs et al. (2004) pondera que adjuntos amiláceos podem ser divididos em três grupos distintos:

- Aqueles que podem ser mosturados sem pré-cozimento, como a farinha de trigo;
- Aqueles que, como o floco de milho, necessitam de um pré-cozimento antes do início da mosturação;
- E aqueles que passam, obrigatoriamente, por um processo de cozimento durante a mosturação, como o gritz de milho, arroz e sorgo.

Milho, trigo, arroz, batata e mandioca são, segundo Briggs et. al. (2004) as cinco principais fontes comerciais de amido.

Atualmente, diversos estudos buscam novas opções de adjuntos não convencionais para a indústria cervejeira, com motivações tais como produção excedente de material amiláceo, reaproveitamento de sub produtos, novos cultivares, e etc (CEREDA, 1983). Adjuntos amiláceos podem ser utilizados na produção de cervejas, com o objetivo de aumentar o rendimento em extrato, de melhorar a estabilidade da bebida e também de reduzir custos de produção, como é o caso de milho, arroz, aveia, entre outros (VENTURINI FILHO, 2000; AGU, 2002; KLOSE et al., 2011); enquanto que os adjuntos líquidos, com destaque ao xarope

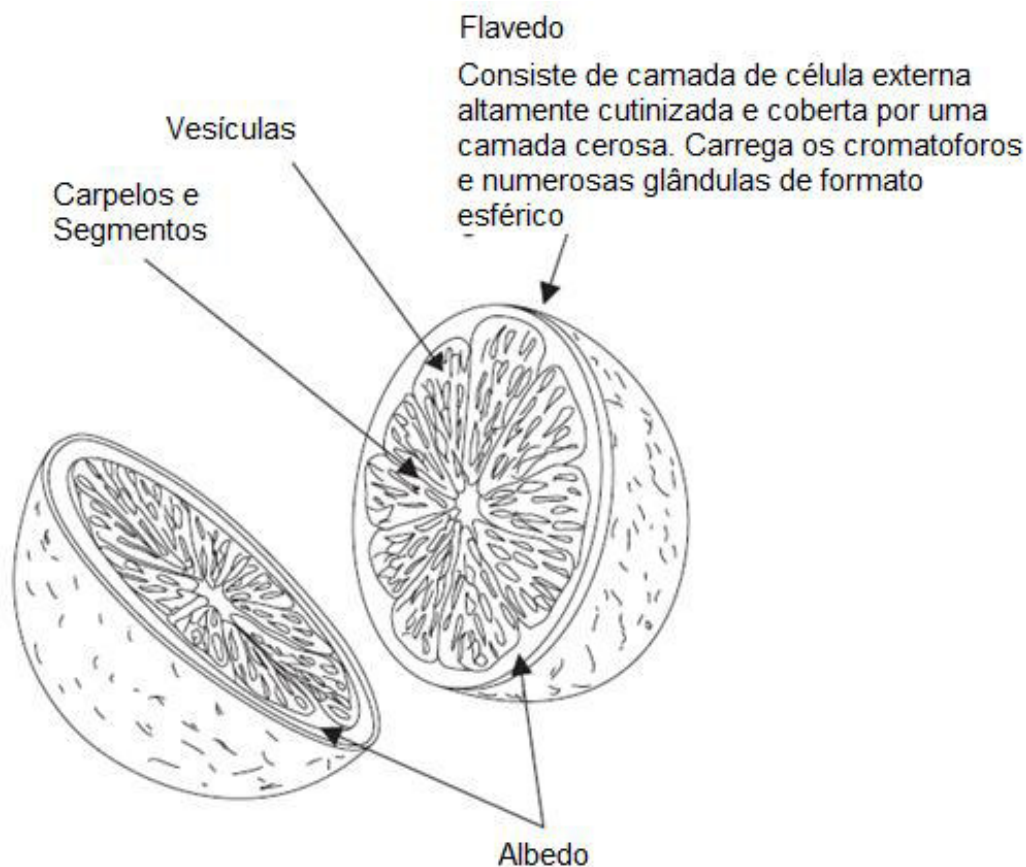
de maltose de milho (HMCS, do inglês *high maltose corn syrup*), possuem preços competitivos (SLEIMAN, 2006). Dragone e Almeida e Silva (2010) citam como adjuntos não convencionais arroz preto, pupunha, pinhão, caldo de cana e frutas tropicais, como a banana.

2.3.3.1 Laranja

A laranja é uma fruta cítrica produzida em diversas regiões do mundo. Fruta é o termo utilizado para descrever o estágio crítico na reprodução de espécies botânicas do reino das plantas, sendo a estrutura que protege as sementes até que elas estejam completamente formadas, geralmente ajudando em suas dispersões. Frutas podem ser categorizadas em dois grupos: secas ou suculentas. As frutas cítricas, são tipos de frutas suculentas que são utilizadas para fins comerciais em diversas partes do mundo, crescendo em lugares com em que o inverno não é muito severo. Os principais tipos de frutos cítricos são limão, lima, toranja, e laranja. A Figura 2 apresenta os principais componentes de um típico fruto cítrico (TAYLOR, 2005).

A laranja (*Citrus cinensis*) é o tipo mais importante de fruta cítrica sendo produzida em diversas regiões do globo, cada uma com sua variedade. Das variedades mais comuns, estão incluídas, Lima, Seleta, Bahia, Navel, Valência, Shamouti, Hamlin e Pera (TAYLOR, 2005; BOTEON, 2015). Destas, algumas variedades são próprias para suco, como a Pera, a qual representa 38% do total de árvores cultivadas, principalmente na região Sudeste do Brasil podendo ser colhidas o ano inteiro (BOTEON, 2015). O suco da laranja Pera, geralmente, possui entre 10-11^oBrix de densidade de açúcar (CITRUSBR, 2012). Além disso, tendo em vista, o baixo teor de lipídeos, e alta concentração de açúcar, a laranja pode ser um atrativo adjunto para a produção de cerveja, já que lipídeos tendem a afetar negativamente em aspectos sensoriais e físico-químicos da cerveja (BRAVI et al., 2009).

Figura 2 – Os componentes de um fruto cítrico típico.



Fonte: Adaptado de Taylor (2005)

2.3.3.1.1. Aspectos da produção e mercado

A colheita de laranja é feita durante todo o ano sendo o Brasil, o maior produtor e responsável pela produção de 428 milhões de caixas de laranja na safra de 2011-2012, 53% da produção mundial e tendo exportado 98% da sua produção, o que representa 85% do comércio mundial de suco de laranja. A Figura 3 mostra a participação do Estado de São Paulo e Triângulo Mineiro, bem como da Flórida na produção mundial de laranja, entre os anos de 1995 e 2010 (CITRUSBR, 2012).

A maior parte (85%) do suco que é produzido é do tipo concentrado (FCOJ, do inglês “*Frozen Concentrate Orange Juice*”) o qual passa por um processo de evaporação à vácuo onde grande parte da água é retirada da bebida. Esse processo de evaporação também é responsável por eliminar microrganismos responsáveis pela deterioração da bebida, além de inativar enzimas que regulam o

amadurecimento e envelhecimento da fruta. O processo de concentração aumenta o teor de sólidos solúveis totais de aproximadamente 10-11º Brix para 66º Brix, sendo então congelado e podendo ser estocado por até 2 anos (CITRUSBR, 2012). Uma menor parte (15%), no entanto é produzida como suco de laranja pasteurizado (NFC, do inglês “*Not From Concentrate orange juice*”) a qual é processada e pasteurizada para inativação de enzimas e eliminação de microrganismos (TAYLOR, 2005).

Somente no ano de 2012, a exportação de FCOJ alcançou a marca de 448 mil toneladas, o que gerou uma receita de aproximadamente US\$ 906 milhões. Um ano antes, em 2011, a exportação havia sido de 441 mil toneladas totalizando uma receita de 888 milhões de dólares. Segundo dados da CitrusBR (2012), em 2010 o consumo de suco de laranja, entre refrescos, néctares e suco 100% de laranja alcançou a marca de 21.219 milhões de litros.

Figura 3 – Evolução da produção mundial de suco de laranja e participação brasileira na produção.



Fonte: Adaptado de CitrusBR (2012).

No entanto, de acordo com pesquisas elaboradas por Marketstrat a partir de dados da GV Agro, USDA e SECEX/MIDC, a tendência atual é de queda das exportações dos produtos citrícolas devido, principalmente, às questões cambiais e alfandegárias enfrentadas pelo setor, redução do consumo do suco em países

desenvolvidos e concorrência com novas regiões produtoras nesses países (CITRUSBR, 2012). Visto isto, o suco de laranja pode ser considerado como um promissor adjunto cervejeiro.

2.3.4 Lúpulo

O lúpulo, cujo nome científico *Humulus lupulus* significa “lobo do solo”, é uma trepadeira dioica, ou seja, flores femininas e masculinas ocorrem em espécimes separados, das quais apenas as flores femininas são importantes para o uso cervejeiro, por produzirem resinas e óleos essenciais que conferem, respectivamente, amargor e aroma para a cerveja (JACKSON, 2010; BELTRAMELLI, 2012).

Pertencente à família *Cannabaceae*, o lúpulo cresce em regiões temperadas, de características fria e úmida, portanto, sendo encontrados, principalmente, na Europa, Ásia e EUA. Na cerveja podem ser usados na forma de flor ou, mais comumente, na forma de péletes ou extratos. Diversas variedades de lúpulos têm sido produzidas de acordo com a quantidade de óleos essenciais e resinas insolúveis, conferindo diferentes aromas e quantidade de amargor (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010; JACKSON, 2010).

O lúpulo é constituído, principalmente, de α -ácidos ou humulonas (2,0 a 16,0%), β -ácidos ou lupulonas (1,5 a 9,5%) e de óleos essenciais (0,2 a 3,0%), com suas proporções dependendo de cada variedade cultivada da planta (SILVA e FARIA, 2008). Além disso, a variedade do lúpulo parece influenciar as quantidades relativas de humulona, cohumulona, adhumulona, prehumulona e poshumulona, todos conhecidos como precursores de substâncias de gosto amargo na cerveja (AITKEN et al., 1970; VERZELE e DE KEUKELEIRE, 1991).

Nas resinas, a substância mais importante para o processo cervejeiro é o α -ácido, presente nas glândulas de lupulina (Figura 4), que após isomerização durante fervura, tornam-se solúveis na forma de iso- α -ácido e conferem o amargor da cerveja. Cálculos de amargor podem ser feitos, considerando a porcentagem de isomerização durante o tempo de fervura, bem como a quantidade de α -ácidos presente em determinada variedade de lúpulo (ROBERTS; WILSON, 2006;

DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010; JASKULA-GOIRIS et al., 2010). Os β -ácidos contribuem para o amargor em menor intensidade, além disso, possuem ação bactericida sobre bactérias Gram-positivas (SILVA; FARIA, 2008).

O amargor da cerveja é quantificado por Unidades Internacionais de Amargor (IBU, do inglês *International Bittering Units*) e relaciona a quantidade em mg de α -ácidos isomerizados por litros de cerveja. Assim sendo, um lúpulo que tenha uma maior quantidade de α -ácidos é comumente chamado de lúpulo de amargor, enquanto que um lúpulo que tenha maior quantidade de óleos essenciais é considerado aromático (ROBERTS; WILSON, 2006).

Devido à presença de proteínas e outras substâncias insolúveis, o lúpulo é importante para a formação de espuma. Além disso, o lúpulo possui ação bacteriostática, sendo responsável pela conservação e aumento do tempo de prateleira da cerveja, por diminuição do risco de contaminação do mosto ou bebida finalizada (BRIGGS et al., 2004; ROBERTS; WILSON, 2006). De acordo com pesquisa realizada por Almeida e Silva et. al. (2014) com α e β ácidos do lúpulo, foi verificado que o α -ácido à uma concentração de 40 ppm propicia redução de células vivas de bactérias *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus plantarum*, sendo inócuo, no entanto, para *S. cerevisiae*. Pusecker et al. (1999) afirmam ainda que os iso- α -ácidos hidrogenados ou reduzidos apresentam propriedades ainda mais interessantes, como a resistência à luz.

Figura 4 – A flor de lúpulo e suas principais estruturas, com destaque às glândulas de lupulina, que contêm as resinas e óleos essenciais.



Fonte: Adaptado de Bamforth (2009).

2.3.5 Levedura

Leveduras são microrganismos unicelulares, eucariontes e desprovidos de clorofila que podem ser encontrados em toda parte, já que seus esporos são levados pelo ar, permitindo o crescimento do organismo sobre uma fonte de compostos orgânicos, os quais servem como nutrientes. As leveduras utilizam-se desses nutrientes como alimentos para sustentar seu crescimento e reprodução (SHWAN; CASTRO, 2001; JACKSON, 2010).

Um pequeno grupo de leveduras, sendo a espécie *Saccharomyces cerevisiae* a que mais se destaca, possui a habilidade de converter açúcares em etanol e CO₂ em ambientes com pouca presença de oxigênio. Esta reação é chamada de fermentação alcoólica, e é o principal processo durante a produção de cerveja, de outras bebidas alcoólicas, bem como de biocombustíveis (PELCZAR JR et al., 1996; SHWAN; CASTRO, 2001; DELOS, 2008).

Tipicamente, as linhagens de *S. cerevisiae* utilizadas no processo de produção de bebidas alcoólicas possuem formas elipsoidais com dimensões características de 6 a 8 µm de comprimento por 5 µm de largura. Possuem, durante a fermentação, reprodução assexuada por brotamento onde o núcleo se divide por “estrangulamento” onde a conexão citoplasmática é fechada pela produção de novo material de parede celular (PELCZAR JR et al., 1996).

A partir de 1883, quando Emil C. Hansen do laboratório da cervejaria Carlsberg, conseguiu isolar uma cultura pura de levedura para a produção de cerveja, diversas linhagens têm sido isoladas para utilização no processo cervejeiro (BELTRAMELLI, 2012). Seguramente, podem ser divididas em dois principais tipos: leveduras de baixa fermentação (tipo *lager*) e leveduras de alta fermentação (tipo *ale*), que apesar de terem sido por um tempo divididas em espécies diferentes, *S. uvarum* (*carlbergensis*) e *S. cerevisiae*, respectivamente, atualmente são denominadas igualmente como *S. cerevisiae* (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010).

De acordo com Dragone e Almeida e Silva (2010), o tipo de levedura utilizada durante a fermentação exerce importante influência sobre aroma e sabor da cerveja. No entanto, apesar do etanol ser o principal produto formado na fermentação, este tende a ter menor influência sobre as características sensoriais

do produto sendo tipo e concentração de vários outros produtos de excreção durante a fermentação quem primariamente determinam o sabor da cerveja.

2.3.5.1 Metabolismo da levedura

As células de levedura apresentam necessidades nutricionais no processo conhecido como fermentação alcoólica, o que influencia diretamente no crescimento e multiplicação celular, bem como na eficiência da transformação de álcool a partir de diversos tipos de açúcares (RIBEIRO; LOPES; FERRARI, 1987).

De acordo com Briggs et al. (2004), a levedura possui mecanismos que dão preferência para assimilação de carboidratos prontamente assimilados, no caso, monossacarídeos e, posteriormente, dissacarídeos e oligossacarídeos. Assim, o açúcar presente no mosto é utilizado pela levedura para a produção de etanol, gás carbônico, massa celular, ácidos succínico e acético, glicerol, álcoois superiores, ésteres, aldeídos, entre outros sub-produtos (BRAGA, 2006).

O extrato do mosto é composto, predominantemente, por carboidratos, havendo também proteínas e cinzas. Dos carboidratos, em torno de 80% são fermentescíveis, dos quais 68% são representados pela maltose, 18% pela sacarose e 14% por maltotriose. Os açúcares podem ser classificados a partir de sua fermentabilidade em:

(1) monossacarídeos que são fermentados diretamente pela levedura (frutose e glicose);

(2) açúcares que são hidrolisados pelas enzimas hidrolases em açúcares diretamente fermentáveis (sacarose, maltose, maltotriose);

(3) açúcares que não são dissociados pela levedura (não são fermentáveis, como as dextrinas e os polissacarídeos) (REINOLD, 1997).

Em situação normal, as leveduras cervejeiras utilizam glicose, frutose, maltose e maltotriose, nessa sequência, embora algum grau de sobreposição possa acontecer. Os mostos obtidos, exclusivamente, de malte, além de dextrinas, contêm como principal fonte de carbono os seguintes açúcares: glicose, maltose e

maltotriose. As dextrinas, no entanto, somente são utilizadas por *Saccharomyces diastaticus*. (SILVA, 2005). Os açúcares fermentáveis contribuem, diretamente, para a doçura de cerveja, enquanto que carboidratos maiores podem ser benéficos para a percepção da cerveja, já que contribuem para o corpo ou a sensação na boca (NOGUEIRA et al., 2005).

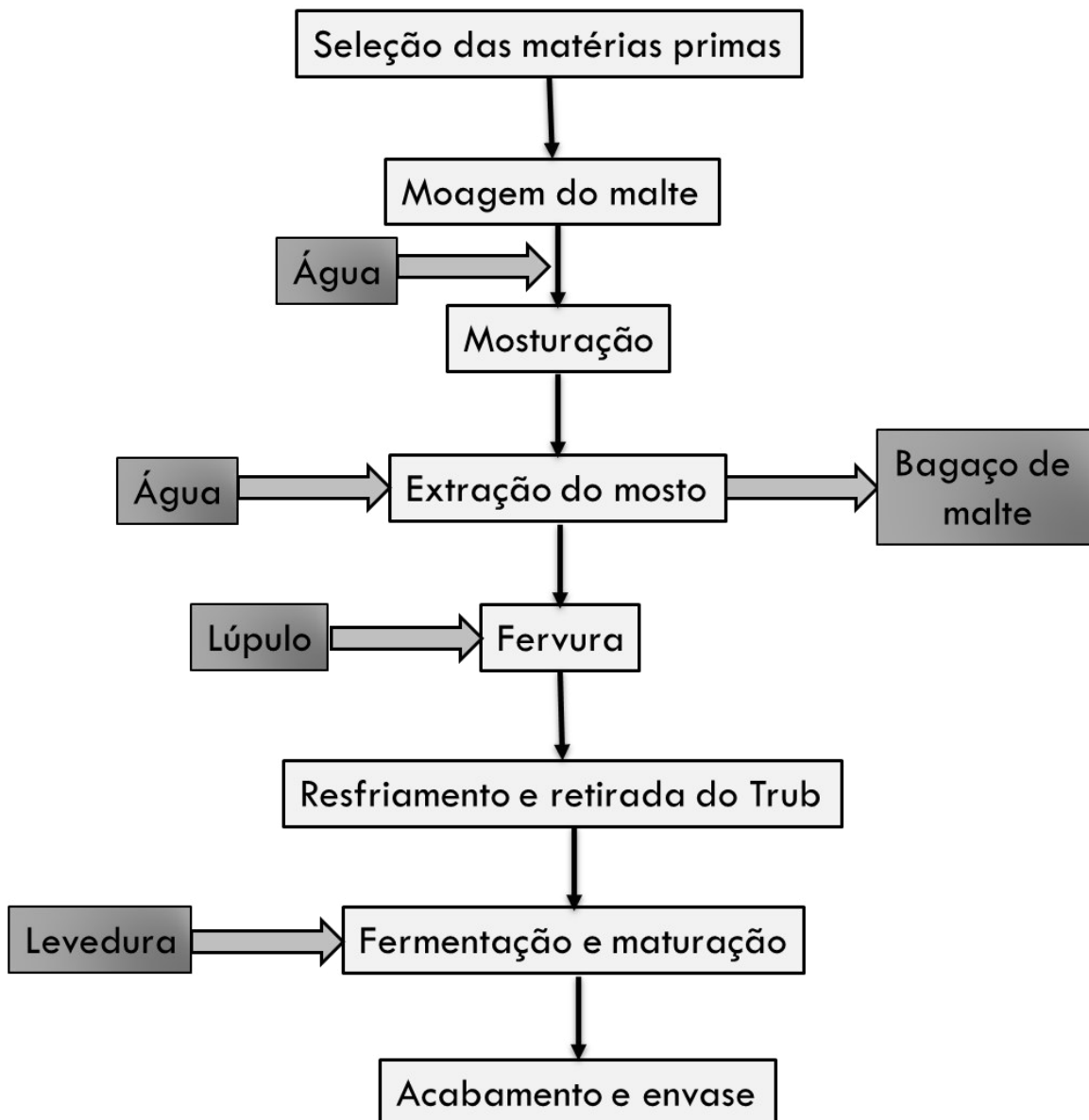
O nitrogênio, por sua vez, é considerado um elemento essencial para a multiplicação e crescimento das leveduras. Esse nutriente entra como constituinte de diversas substâncias orgânicas encontradas nas leveduras, como os aminoácidos, proteínas, enzimas, purinas, pirimidinas, pigmentos respiratórios (citocromos), lecitinas, vitaminas e cefalina (WHITE, 1954). A principal fonte de nitrogênio que existe no mosto para a síntese de ácidos nucleicos, proteínas e outros componentes nitrogenados, é a variedade de 19 aminoácidos formados a partir da hidrólise das proteínas do malte, que ocorre na primeira etapa da produção de cerveja, a mosturação. O mosto obtido a partir desse processo possui 19 aminoácidos, que, em condições fermentativas, são consumidos, ordenadamente, pelas leveduras, sendo diferentes aminoácidos assimilados em vários estágios do ciclo fermentativo (RUSSEL, 1994).

O oxigênio, que é fornecido por aeração do mosto antes da inoculação da levedura, é consumido geralmente em poucas horas e utilizado para produzir ácidos carboxílicos insaturados e esteróis, compostos essenciais para a síntese da membrana celular e para o crescimento da célula. Esse fenômeno ficaria restrito na ausência do oxigênio inicial, causando fermentação anormal e mudanças nas características sensoriais da cerveja. No entanto, somente no início do processo fermentativo o oxigênio é benéfico; em qualquer outra etapa do processo, promove instabilidade do produto final (SILVA, 2005).

2.4 Processo de produção de cerveja

A Figura 5 representa resumidamente o processo de produção de uma cerveja desde a seleção das matérias primas até o envase.

Figura 5 – Fluxograma da produção de cervejas.



Fonte: Adaptado de TSCHOPE (2001); ALMEIDA e SILVA (2005); MORADO (2009); e EATON (2009).

A produção da cerveja começa com a separação e moagem da cevada previamente malteada. A moagem tem influência sobre a conversão de amido em açúcares fermentescíveis, clarificação e, conseqüente, qualidade do produto final, devendo produzir três principais características:

- Rompimento da casca no sentido longitudinal, expondo a porção interna do grão, mantendo a casca íntegra, o que auxiliará na filtragem;

- A desintegração total do endosperma, a qual, possibilitará uma melhor ação das enzimas do próprio malte;
- Produção mínima de farinha, o que evita a formação de aglomerados pastosos dentro da solução (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010).

Com o grão moído, dá-se início à mosturação, que consiste na solubilização das substâncias do malte em temperatura controlada, para ativação de enzimas específicas presentes no grão de cevada e viabilizadas pela malteação. A Tabela 3 mostra as enzimas ativadas em cada faixa de temperatura. A mosturação ocasionará a geleificação e posterior hidrólise do amido. Perfis de mosturação podem variar de receita para receita dependendo da quantidade de atividade enzimática esperada no mosto. Geralmente, as principais enzimas ativadas durante a mosturação são proteases, que fornecem aminoácidos para a levedura; e amilases, que hidrolisam o amido em açúcares fermentescíveis. A ativação enzimática é feita a partir de adição da chamada água primária e aquecimento da solução a temperaturas pré-definidas (KUNZE, 1999; DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010).

Após a mosturação, o mosto é recirculado, propiciando a formação de uma cama de malte, bagaço, ou torta. A casca do malte opera como uma camada filtrante que promoverá a clarificação do mosto e extração dos açúcares fermentescíveis. A chamada água secundária é utilizada, à 75°C, para fazer uma lavagem desta cama de malte e aumentar a extração de açúcar, elevando, conseqüentemente, o rendimento do processo (PALMER, 2015; DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010; KOCH, 2011;).

Tabela 3 – Temperaturas de ativação das enzimas presentes no malte de cevada.

Enzimas	Temperaturas Ótimas(°C)	Função
Hemicelulases	40-45	Decomposição da hemicelulose em produtos de médio e baixo peso molecular
Exopeptidases	40-50	Decomposição das proteínas de alto e médio peso molecular em aminoácidos
Endopeptidases	50-60	Decomposição das proteínas em produtos intermediários de alto e médio peso molecular
Dextrinase	55-60	Decomposição do amido em maltose e maltotriose pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 6$
β -amilase	60-65	Decomposição do amido em maltose pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 4$
α -amilase	70-75	Decomposição do amido em dextrinas inferiores pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 4$

Fonte: Adaptado de TSCHOPE (2001)

O mosto filtrado é então levado para uma etapa de fervura vigorosa que dura de 60 a 90 minutos. Nessa etapa, são adicionados os lúpulos que conferem aroma e amargor à cerveja. As adições podem ser feitas em qualquer momento da fervura, sendo que a isomerização dos α -ácidos é estimada devido ao tempo de fervura, quantidade de lúpulo e concentração de α -ácidos no lúpulo utilizado, possibilitando-se a realização de uma estimativa final de amargor da cerveja. Devido à própria fervura, a assepsia do mosto também é realizada, eliminando assim, qualquer microrganismo contaminante (LEIPER; MIEDL, 2006; DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010). Na fervura ocorre também a coagulação de proteínas e polifenóis insolúveis e quando o mosto é resfriado rapidamente há formação de um precipitado, chamado de *trub*, o qual é separado, favorecendo maior clarificação do

mosto, o qual é, então, aerado e a levedura é inoculada à temperatura de fermentação (LINKO et al., 1998).

A produção industrial de cerveja utiliza-se de uma fermentação descontínua e sem agitação do mosto. Durante esse período um perfil de temperatura é utilizado a fim de se obter um nível estipulado de etanol (ANDREAS-TOROA et al., 1998). A fermentação é geralmente feita por 5 a 10 dias sendo analisadas as mudanças de densidade e pH para acompanhar o processo. A temperatura de fermentação varia dependendo do estilo da cerveja, as cervejas *lager* fermentam a temperaturas mais baixas, entre 7 a 14°C, enquanto que as *ale* fermentam entre 15 a 20°C (MUNROE, 2006). A baixa temperatura de fermentação permite a obtenção de um alto rendimento em etanol, associando a fermentação completa com a mínima perda de álcool pela evaporação (ARRUDA et al., 2003)

Ao fim da fermentação, a bebida obtida é chamada de cerveja verde, já que existe pouco CO₂ retido, turbidez e qualidade de sabores e aromas inferiores ao do produto acabado (BRIGGS, 2004). A temperatura, então, é diminuída para próximo de 0°C, quando será inicializada a maturação. Durante essa etapa, ocorre principalmente a fermentação secundária, na qual existe uma maior retenção de CO₂; clarificação, através da decantação de partículas suspensas; e arredondamento de aromas e sabores, através da eliminação de compostos indesejáveis, como o diacetil e acetaldeído. O período de maturação pode durar de 2 a 4 semanas (LINKO et. al., 1998; MUNROE, 2006; DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010).

A etapa de finalização da cerveja consiste na clarificação, carbonatação, envase e pasteurização. As técnicas mais comuns de clarificação são sedimentação por gravidade; agentes clarificantes, como ictiocola, ácido tânico, silicatos ou sílica gel; centrifugação; e a filtração, a qual utiliza três mecanismos, por superfície, por profundidade através do aprisionamento mecânico das partículas, e por profundidade através da adsorção das partículas. A carbonatação, pode ser feita através da injeção de CO₂ ou através de fermentação secundária na própria garrafa. O envase pode ser feito em garrafas, barris, ou latas. A técnica de pasteurização mais comum é o aquecimento da cerveja até 60°C, o tempo em que a cerveja ficar nessa temperatura registrará o número de unidades de

pasteurização (UP) sendo a cerveja geralmente pasteurizada com 15-30 UP (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

2.5 Análise sensorial

Embora os instrumentos analíticos sejam efetivos em detectar características físico-químicas importantes para a indústria de bebidas, eles não são capazes de medir a percepção humana. Desta forma, a análise sensorial mostra-se como uma ferramenta imprescindível para estudo de bebidas, uma vez que esta é a única forma de medir a intensidade de um aroma ou sabor, avaliar a aceitação ou ainda fornecer respostas para quantificar características sensoriais do produto (CARDELLO, 1999).

São muitas as aplicações da análise sensorial na indústria de alimentos e nas instituições de pesquisa, como por exemplo, no controle das etapas de desenvolvimento de um novo produto, na avaliação do efeito das alterações nas matérias primas ou do processamento tecnológico sobre o produto final, na seleção de uma fonte de suprimento e até mesmo no controle da qualidade do produto, dentre outros. Com isto, é possível afirmar que a avaliação e a caracterização sensorial fornecem suporte técnico para a pesquisa, industrialização, *marketing* e controle da qualidade em novos e/ou já conhecidos produtos (DUTCOSKY, 1996; HARDWICK, 1994).

O consumidor é o destino final de todo e qualquer produto que seja desenvolvido, seja este um bem de consumo ou um alimento. Todo produto tem como objetivo final a aceitação e a satisfação de um consumidor (NGAPO et al., 2003).

É neste contexto que se percebe a força que o indivíduo exerce sobre o sucesso ou o fracasso de qualquer produto; e com isso, um esforço primordial deve ser voltado ao estudo e à percepção dos fatores que determinam o comportamento do consumidor em relação a este produto. Somente o entendimento desta relação entre o consumidor e produto é que pode garantir o sucesso do mesmo, a inovação e a manutenção de sua vantagem competitiva perante aos demais produtos do mercado (DELLA LUCIA, 2006; MINIM, 2006).

Saber medir e interpretar as respostas dos consumidores é, entretanto, um trabalho bastante complicado porque o comportamento do consumidor envolve um emaranhado de conceitos aprendidos, vivenciados e até conceitos instintivos do próprio indivíduo. No caso específico de produtos alimentícios, o consumidor se vale de conceitos múltiplos que englobem desde a área de ciência e tecnologia de alimentos, passando pela nutrição, bioquímica, fisiologia, psicologia até, finalmente o *marketing* relacionado ao alimento (DELLA LUCIA, 2008).

Uma vez que a satisfação do consumidor provém de sua percepção positiva acerca da qualidade do alimento, deve-se ter em mente que o próprio consumidor é quem deve ditar os parâmetros de qualidade desse produto. Em estudos que envolvem a análise sensorial de alimentos, como aqueles voltados para os testes de aceitação e preferência, o consumidor é o objeto fundamental de medida da qualidade sensorial do produto (DELLA LUCIA, 2008).

Para um estudo envolvendo produção de cerveja, é plausível a realização de uma análise sensorial. O teste descrito por Dutcosky (1996) utiliza de provadores não treinados avaliando uma cerveja através de uma escala hedônica com nove pontos variando de (1), desgostei muitíssimo, à (9), gostei muitíssimo. Araújo et al. (2003) ainda definem que a importância da utilização de uma avaliação sensorial é conhecer os aspectos do produto e intenção de compras do consumidor.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo a produção de uma cerveja de baixa fermentação, utilizando tanto suco pasteurizado como suco concentrado de laranja como adjuntos de malte na sua fabricação.

3.2 Objetivos específicos

- Obter cervejas com 100, 90, 75 e 55% de malte, complementados, respectivamente, com 0, 10, 25 e 45% de suco pasteurizado ou concentrado de laranja, em escala de bancada;
- Análises físico-químicas dos mostos e das bebidas produzidas;
- Determinar, através de análises sensoriais, a bebida que mais agrada ao consumidor;
- Produção da cerveja mais aceita nas análises sensoriais, avaliando a reprodutibilidade de acordo com as análises físico-químicas, em escala piloto;
- Determinar a aceitação da bebida produzida em escala piloto frente a bebidas comerciais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Planta Piloto de Bebidas do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo.

4.1 Material

4.1.1 Água

No presente estudo, a água utilizada foi obtida do poço artesiano que abastece a Escola de Engenharia de Lorena a qual, foi analisada e caracterizada por Aizemberg e Almeida e Silva (2012) conforme apresentado na tabela 3. O pH da água foi previamente ajustado para 5,5 antes do início da mostura.

Tabela 4 – Características físico-químicas da água utilizada para produção de cerveja pela Microcervejaria da Escola de Engenharia de Lorena.

Característica	Resultado
pH	6,66
Odor	Inodora
Sabor	Livre de sabor
Aspecto	Límpida
Turbidez	0,54 UNT
Cor	< 5 mg PI/L
Dureza Total	26 mg/L CaCO ₃
Cloretos	1,2 mg/L
Magnésio	0,935 mg/L
Zinco	5,28 mg/L
Nitrato	0,19 mg/L
Ferro	0,055 mg/L

Fonte: Adaptado de Aizemberg e Almeida e Silva (2012)

4.1.2 Malte

O malte tipo *Pilsen* utilizado na condução do estudo foi gentilmente doado pela Malteria do Vale S/A, de Taubaté, SP, em sacos de 50 kg.

4.1.3 Lúpulo

O lúpulo utilizado é da variedade Zeus, com 13,9% (m/m) de α -ácidos, na forma de péletes, sendo fornecido pela Wallerstein Industrial e comercial Ltda., de São Paulo, SP.

4.1.4 Laranja

A laranja utilizada para a produção de suco foi da variedade Pêra Rio adquirida na região de Lorena, SP.

4.1.5 Concentrado de Laranja

O concentrado de laranja foi adquirido através da Frutti Life Indústria Comércio Sucos Ltda., situada na cidade de Matão, SP.

4.1.6 Levedura

A levedura da espécie *Saccharomyces cerevisiae* utilizada no desenvolvimento do projeto era liofilizada da variedade Lager M84 da Mangrove Jacks adquirida em lojas de insumos cervejeiros em sachês de 11,5 g e foi mantida refrigerada enquanto não foi utilizada. Foi ativada conforme especificação do fabricante.

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção do suco de laranja

O suco de laranja foi obtido a partir de um Espremedor de Frutas Citrus Turbo (53301015) Philco e coado em peneira para separação de resíduos sólidos. O suco de laranja não concentrado foi ainda pasteurizado à 60°C em Erlenmeyer de 5 litros por 20 minutos abaixando a temperatura com banho de água gelada. A seguir, amostras do suco foram separadas para análises de pH e Brix através de um refratômetro manual (RHB-32/ATC MEGABRIX®). O suco de laranja foi utilizado durante a mosturação.

4.2.2 Análise do Concentrado de Laranja

O concentrado de laranja, após o seu recebimento, passou por análise de Brix através de um refratômetro manual (RHB-32/ATC MEGABRIX®).

4.2.3 Ensaio

Em escala de bancada, foram feitos 7 ensaios preliminares, com diferentes proporções de suco de laranja (concentrado ou não). As proporções utilizadas foram 100:00, 90:10, 75:25, 55:45 malte:adjunto, sendo que a primeira proporção serviu como controle. Cada ensaio foi de 5 litros e feito em duplicata.

4.2.4 Moagem do malte

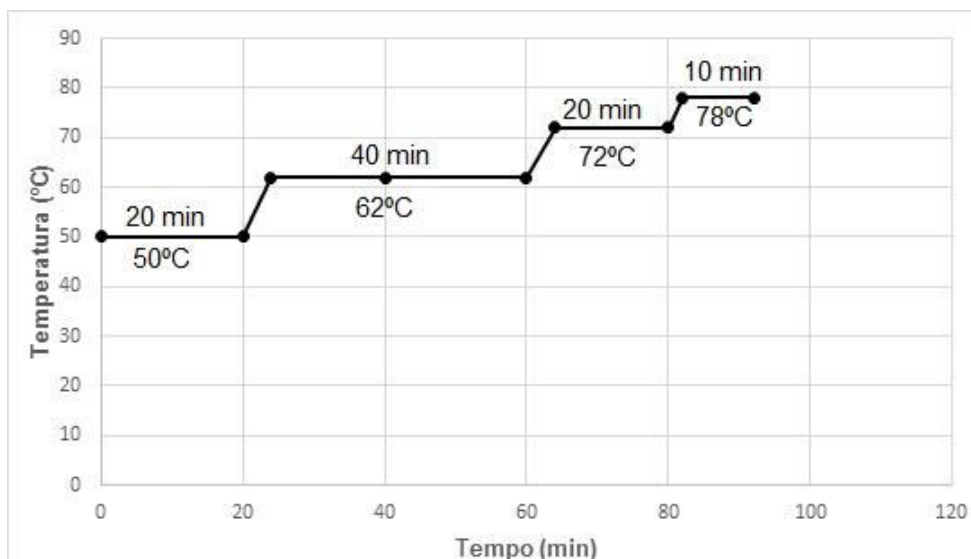
A proporção necessária do malte de cevada para obtenção de um mosto cervejeiro com concentração de extrato primitivo de $12^{\circ}\text{P} \pm 0,5$ foi moído através de um moinho de rolos motorizado com um distanciamento de 0,6 mm a fim de se obter uma moagem adequada.

4.2.5 Mosturação

No processo de mosturação, também conhecido como brassagem, o malte moído foi colocado em infusão com água em uma proporção de 2,5:1 (água/malte) onde as condições de temperatura foram controladas por determinados períodos, com objetivo de ativar as enzimas correspondentes na Tabela 3, hidrolisando os diferentes compostos presentes no malte.

A Figura 6 representa a programação de tempo e temperatura pela qual a mosturação foi realizada para todas as cervejas produzidas.

Figura 6 – Programação de tempo e temperatura da mosturação.



Fonte: Adaptado de Almeida e Silva, 2005.

O primeiro passo de temperatura é um descanso de desproteínização, ou parada proteica, e hidrólise de β -glucanos, seguido de um aumento de temperatura para a ocorrência de sacarificação em 65°C e outro aumento que assegura a total dissolução dos pequenos grãos de amido, como é sugerido por Brandam et al. (2003). A parada proteica é feita para hidrolisar proteínas presente no malte em aminoácidos que serviram como nutriente para a levedura durante a fermentação.

A prova com solução de iodo 0,02N foi realizada ao fim da mostura para atestar a hidrólise do amido. A confirmação da hidrólise completa do amido se dá pela ausência de coloração roxo-azulada no teste do iodo, permitindo o aumento da temperatura para 78°C por 10 minutos visando a inativação das enzimas do malte, processo esse chamado de *mash out*, e prosseguir o processo de obtenção do mosto.

Durante essa etapa, para manter as proporções adequadas, nos ensaios que empregam o suco de laranja, o mesmo foi utilizado para lavagem do bagaço, como fonte de água, de modo a obter um mosto final de $12^{\circ}\text{P} \pm 0,5$ com as proporções 90:10, 75:25 e 55:45 malte:suco de laranja.

4.2.6 *Clarificação do mosto*

A clarificação do mosto, foi realizada no mesmo recipiente de mostura, através da recirculação do mosto, pela camada ou torta filtrante, formada pelo próprio bagaço de malte que retém sólidos em suspensão. A recirculação foi feita até que fosse observado um mosto límpido. Nesse momento o mesmo foi transferido para o recipiente de fervura.

Após a clarificação, uma quantidade de água secundária à 78°C suficiente para o volume desejado para a produção do mosto foi utilizada para a lavagem da camada de malte formada durante a recirculação. Essa lavagem é feita para que uma maior quantidade de açúcares residuais seja extraída do bagaço do malte.

4.2.7 *Fervura do mosto*

O mosto foi submetido à uma fervura vigorosa por 60 minutos quando foi adicionado o lúpulo em quantidade necessária para a obtenção de uma concentração de iso- α -ácidos de 17 mg/L, o que representa, aproximadamente, ao amargor de 17 IBU, considerando-se isomerização de 30% para o lúpulo utilizado por 60 minutos de fervura e 15% para o lúpulo utilizado por 15 minutos, de acordo com a Tabela 5. As quantidades de lúpulo foram colocadas duas vezes, uma no começo da fervura (tempo 0), responsável pelo amargor, e outra, 15 minutos antes do final da fervura (tempo 45), sendo responsável pelo aroma. Nas cervejas em que foi utilizado o concentrado como adjunto, este foi adicionado faltando 15 minutos do final da fervura (tempo 45).

Antes de resfriar o mosto, foi feita a medida de grau Brix a fim de se alcançar 12°Brix \pm 0,2, utilizando-se um refratômetro. Quando necessário, foi adicionado água, previamente fervida, ou prolongado a fervura a fim de se concentrar mais o mosto.

Tabela 5 – Valores de taxa de isomerização do lúpulo em pellet de acordo com o tempo de fervura.

Tempo de fervura (minutos)	Taxa de isomerização do lúpulo em pellet (%)
Lúpulo seco	0
0 a 9	6
10 a 19	15
20 a 29	19
30 a 44	24
45 a 59	27
60 a 74	30
75 ou mais	34

Fonte: Daniels, 2000.

4.2.8 Resfriamento do mosto

Utilizando-se na escala de bancada, de um trocador de calor, como uma serpentina de alumínio, o mosto pós-fervura foi resfriado até uma temperatura próxima à da fermentação. Após o resfriamento, o *whirlpool*, que é uma agitação circular a qual provoca uma força centrípeta nos sedimentos, foi realizado para facilitar a retirada do *trub*, resíduo sólido formado pela precipitação de proteínas, polifenóis e outros compostos insolúveis.

4.2.9 Fermentação e maturação

O mosto foi transferido para um fermentador cilíndrico com capacidade de 10L com torneira e *airlock*, uma válvula que permite a saída de CO₂ sem entrada de oxigênio. A levedura foi inoculada seguindo as indicações do fabricante. Amostras de 25 mL foram retiradas de 12 em 12 horas durante a etapa de fermentação, a qual foi conduzida a 12°C±0,2 em uma geladeira regulada com

termostato. Após o fim da fermentação, o fermentador foi transferido para uma câmara fria regulada a 6°C para iniciar a etapa de maturação durante 2 semanas.

4.2.10 Envase e carbonatação

Para a realização da carbonatação, foi adicionado à cerveja, uma solução de açúcar a 6 g/L. A mistura foi envasada em garrafas de 600 mL e mantidas por 30 dias à temperatura ambiente, o que induziu uma refermentação dentro da própria garrafa, proporcionando a carbonatação da bebida.

4.2.11 Concentração celular

A contagem de células na câmara de Neubauer foi realizada através de amostras de 5 mL retiradas durante a fase de fermentação, sendo expressa em número de células por mililitro. Também foi feita a determinação de viabilidade celular, com adição de azul de metileno 0,01%, pelo método internacional segundo a American Society of Brewing Chemists, 1996.

4.2.12 Análises físico-químicas

As amostras das cervejas retiradas durante a fermentação, bem como amostras pós-mostura, pré-fervura e pós-fervura, passaram pelas seguintes análises físico-químicas:

- pH;
- Teor alcoólico, extrato original, extrato aparente, extrato real, densidade, grau de fermentação aparente através de um analisador de cerveja (Beer Analyser 2, ANTON-PAAR®, Áustria).

Primeiramente, o pH das amostras foi medido em um pHmetro de bancada. Em seguida, as bebidas foram desgaseificadas através de agitação, em uma temperatura entre 21 a 25°C, por 1 minuto. A bebida foi, então, centrifugada por 10

minutos à 5400 rpm e o sobrenadante foi separado, conforme o protocolo do analisador de cerveja. Com os resultados obtidos, o parâmetro cinético de produtividade em etanol foi calculado para todos os ensaios, de acordo com Hiss, 2001:

- Produtividade em etanol (g/L.h);

$$Qp = \frac{\Delta P}{tf} \quad [1]$$

A conversão das unidades de concentração de etanol (%v/v) para (g/L) foi realizada de acordo com a fórmula abaixo.

$$\text{Etanol (g/L)} = \text{Etanol (\%v/v)} \times 0,789 \text{ (g/mL)} \times 10$$

Onde: 0,789 (g/mL) é a densidade do etanol à 20°C.

4.2.13 Análise sensorial

Com a bebida finalizada, uma análise sensorial segundo Monteiro (1984) foi feita para avaliar a aceitabilidade, atributos sensoriais e intenção de compra das cervejas, comparadas com uma amostra comercial.

Três amostras, por vez, de 40 mL de cerveja foram apresentadas a 60 provadores não treinados, codificadas com três dígitos e servidas a uma temperatura de $4 \pm 1^\circ\text{C}$. Água e biscoitos de água e sal foram servidos para limpeza do paladar entre uma amostra e outra.

Em uma ficha de avaliação sensorial (Figura 7), os provadores avaliaram os atributos: aparência, cor, aroma, sabor, e impressão global a partir de uma escala hedônica de 9 pontos, sendo a nota 9 significando “gostei muitíssimo” e a nota 1 “desgostei muitíssimo”. Além disso, a intenção de compra foi avaliada utilizando uma escala de 5 pontos, sendo 5 “certamente compraria” e 1 “certamente não compraria”.

As análises sensoriais das bebidas produzidas foram feitas em cabines individuais no laboratório da Planta Piloto de Bebidas da EEL. Os provadores foram consumidores comuns de cerveja com idade superior a 18 anos e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para poderem participar da análise.

Os dados obtidos durante as análises sensoriais foram submetidos a análise de variância (ANOVA), com o teste de Tukey, com nível de significância de 5% para comparação das médias.

Figura 7 – Ficha utilizada nos testes de aceitação e intenção de compra durante as análises sensoriais.

Nome: _____		Data: ____/____/____	
Idade: _____	Sexo: Feminino <input type="checkbox"/>	Masculino <input type="checkbox"/>	
Por favor, avalie as amostras codificadas da esquerda para a direita e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou da mesma.			
(9) Gostei Extremamente		Código da Amostra: _____	_____
(8) Gostei Muito		Notas:	
(7) Gostei Moderadamente		Impressão Global:	_____
(6) Gostei Ligeiramente		Cor:	_____
(5) Não Gostei nem Desgostei		Aroma:	_____
(4) Desgostei Ligeiramente		Sabor:	_____
(3) Desgostei Moderadamente		Aparência:	_____
(2) Desgostei Muito			
(1) Desgostei Extremamente			
Assinale qual seria a sua atitude quanto à compra do produto:			
(5) Eu certamente compraria este produto		Código da Amostra	
(4) Eu provavelmente compraria este produto		_____ ()	
(3) Eu tenho dúvidas se compraria ou não este produto		_____ ()	
(2) Eu provavelmente não compraria este produto		_____ ()	
(1) Eu certamente não compraria este produto		_____ ()	

Fonte: Adaptado de Dutcosky, 1996.

4.2.14 Produção em escala piloto

Foi produzida, de acordo com a metodologia descrita nos itens 4.2.4. ao 4.2.8., e fermentada e maturada em reator com controle de temperatura produzido pela MecBier na planta piloto de 200L pertencente a EEL, a bebida com maior aceitação sensorial, de acordo com as análises estatísticas. A bebida foi filtrada em

filtro de pratos utilizando terra diatomácea como agente filtrante, carbonatada através de injeção de CO₂ e envasada em barris e garrafas.

4.2.15 Análises estatísticas

Todos os ensaios foram realizados em duplicata e para cada análise serão calculados a média e o desvio padrão.

Também foi calculado a produtividade e a análise estatística entre os ensaios foi feita a partir da análise de variância (ANOVA) com comparação de médias pelo teste de Tukey com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extração do suco de laranja

A análise de grau Brix foi feita para todos os sucos de laranja utilizados em cada cerveja produzida. A fim de se utilizar um suco mais fresco, a extração do suco foi efetuada no dia que antecedeu a produção do mosto. Assim, pequenas variações de Brix e pH foram observadas de um suco para o outro.

A Tabela 6 mostra o grau Brix e o pH do suco utilizado na produção de cada um dos mostos feitos para as cervejas com suco como adjunto.

Tabela 6 - Análises de Brix e pH do suco de laranja pasteurizado utilizado em cada um dos mostos.

Malte/adjunto	90/10	75/25	55/45
Brix	10,7	9,8	8,7
pH	4,21	4,05	4,08

Fonte: Arquivo pessoal.

Corazza et. al. (2001) preparam um vinho de laranja com o suco seguindo o mesmo protocolo utilizado, e obtiveram valores de 9,5 °Brix e pH 3,64, enquanto que Escudero-Lopez (2013), quando estudou níveis de carotenoides e flavononas em um fermentado de laranja encontrou valores de 11 °Brix e pH 3,48, corroborando com o encontrado no presente estudo e mostrando também que existem variações entre as frutas utilizadas tanto em extrato quanto em pH. Segundo CitrusBR (2012), o suco de laranja pêra possui entre 10-11° Brix de densidade de açúcar.

5.2 Análise de Brix do concentrado de laranja

Foi analisado o grau Brix do concentrado de laranja a fim de se confirmar o teor de açúcar. Como todas as cervejas complementadas com concentrado de

laranja produzidas utilizaram o xarope do mesmo lote, somente uma análise foi feita, diferentemente do suco de laranja obtendo um resultado de 57,57 °Brix, ligeiramente abaixo do informado pelo fornecedor, que era de 65°Brix.

5.3 Produção dos mostos em escala de bancada

Com os resultados das análises do teor de Brix do suco e concentrado de laranja, calculou-se a quantidade necessária de malte e adjunto para produção dos mostos com 10%, 25% e 45% de suco ou concentrado. Os mostos foram, então, produzidos seguindo os cálculos e obteve mostos com as características representadas pela Tabela 7.

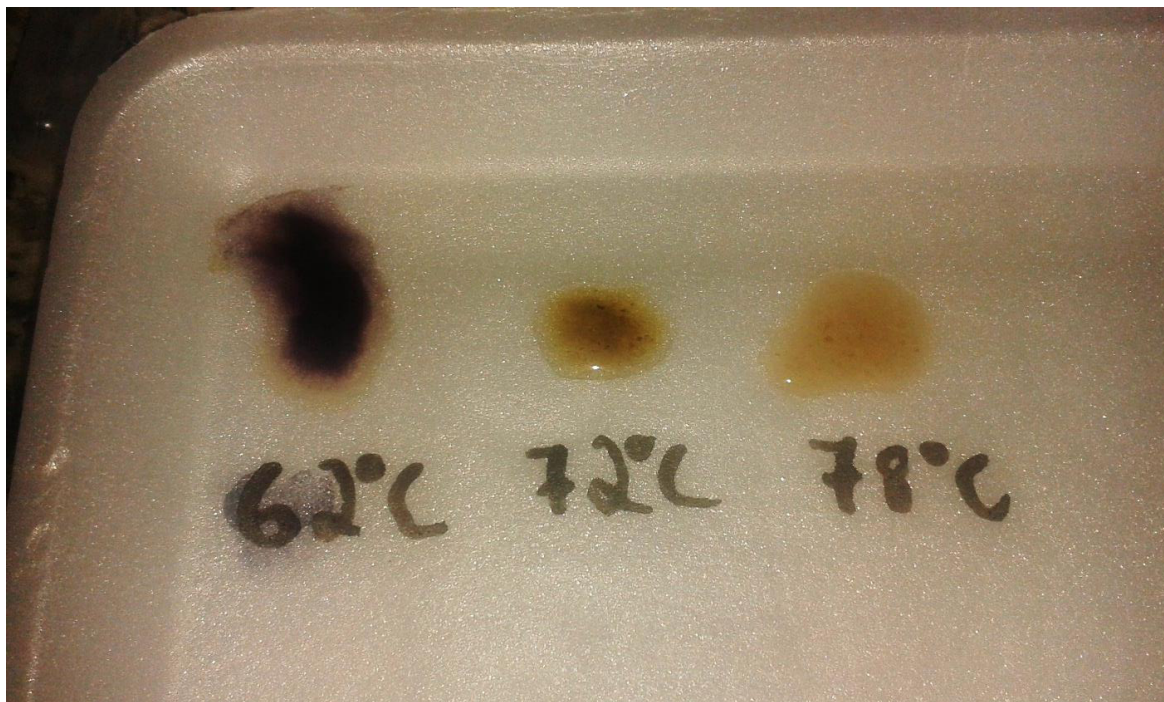
Tabela 7 - Características dos mostos produzidos

Mosto	Puro Malte	Suco 55/45	Suco 75/25	Suco 90/10	Conc. 55/45	Conc. 75/25	Conc. 90/10
°Brix adjunto	-	8,7	9,8	10,7	57,57	57,57	57,57
°Brix Mosto Primário	23	23,2	23,5	23,5	23,6	21	22,6
°Brix mosto pré fervura	10,5	8	9,2	11,5	3,8	8	8,8
°Brix mosto final	11,9	11,8	12	12,4	12,2	12,2	12,2
Volume mosto pós fervura (L)	10,65	10	10,1	11,8	11	11,8	11,1
Volume Trub (L)	0,45	0,5	0,25	0,36	0,35	0,9	0,94

Fonte: Arquivo pessoal.

Durante a mosturação, todos os mostos apresentaram conversão do amido em açúcares fermentescíveis, atestado pelo teste de iodo (Figura 8). Quando na presença de amido, o iodo reage apresentando uma coloração mais escura. Pelter e McQuade (2005) monitoraram todo o tempo de mostura, mostrando a conversão do amido através do simples teste de iodo, possibilitando uma forma interessante de estudar a hidrólise enzimática do amido.

Figura 8 - Teste de lodo feito no começo dos diferentes patamares de temperatura (62°C, 72°C e 78°C) durante a mosturação.



Fonte: Arquivo pessoal.

Todos os mostos produzidos alcançaram, aproximadamente, 12°Brix, utilizando ou não correção após a fervura (Tabela 7). Como exemplo, o mosto complementado com 10% de suco de laranja, antes da fervura já atingia 11,5°Brix, necessitando de diluição, após a qual atingiu um volume final de 11,8L. Por outro lado, o mosto complementado com 45% de suco de laranja, ao final da fervura ainda apresentava baixo teor de Brix, necessitando correção através de prolongamento de 10 minutos no tempo de fervura, fornecendo um volume final de 10L, sendo que 0,5L foi perdido com o *trub*. As aferições do grau Brix foram feitas com refratômetro para agilizar a medição e diminuir o tempo de espera para realização de possível correção de extrato e de inóculo da levedura, o que também reduz a possibilidade de contaminação bacteriana ou por leveduras selvagens.

Durante a produção dos mostos com suco de laranja como adjunto de malte, a alta quantidade de fibras, mesmo após o suco ter sido coado, acarretou no entupimento do equipamento, dificultando a recirculação do mosto, em escala de bancada. Goode e Arendt (2003), utilizando sorgo como adjunto, também verificaram dificuldade de filtração, atribuindo esse problema à diminuição na espessura da camada filtrante, visto que o sorgo não possui casca. Algo

semelhante pode ter acontecido no caso da laranja, associando-se à alta quantidade de fibras como já citadas.

5.4 Acompanhamento da fermentação dos mostos

A média dos resultados das análises físico-químicas de cada proporção de cerveja produzida está apresentada na Tabela 8. Estes resultados são frutos das análises das cervejas ao final do período de fermentação e antes de serem engarrafadas.

Tabela 8 - Análises físico-químicas de todas as cervejas produzidas ao final da fermentação.

	45% Suco	45% FCOJ	25% Suco	25% FCOJ	10% Suco	10% FCOJ	Puro Malte
Álcool (%)	5,31	6,22	5,44	6,19	5,13	5,54	4,72
Extrato Real (% m/m)	4,15	3,77	4,35	4,37	5,24	4,19	5,38
Extrato Original (°P)	12,21	13,19	12,57	13,69	12,94	12,57	12,5
Extrato Aparente (°P)	2,33	1,64	2,48	2,26	3,48	2,29	3,77
Atenuação Real (%)	67,46	72,83	66,94	69,63	61,23	68,18	58,58
Atenuação Aparente (%)	80,98	87,57	80,28	83,49	73,11	81,83	69,88
Densidade	1,0072	1,0046	1,0079	1,0070	1,0118	1,0071	1,0129
pH	4,3	3,8	4,5	4,0	4,7	4,1	4,8

Fonte: Arquivo pessoal.

Nota-se que as cervejas com teores de extrato primitivos bem próximos, proporcionaram diferença na produção de etanol e consumo de açúcar, observado pela diminuição do extrato real. Na cerveja puro malte, por exemplo, houve formação de 4,72% de álcool, enquanto que a cerveja substituída com 45% de

FCOJ produziu 6,22%. O pH final da cerveja também foi influenciado pela quantidade e tipo de adjunto, sendo que quanto mais laranja, menor o pH final da cerveja, além de que as cervejas produzidas com FCOJ tiveram pHs menores do que as cervejas produzidas com suco de laranja.

Em um estudo sobre a fermentação da frutose e glicose em mostos cervejeiros, Cason (1987) mostrou que a presença desses açúcares aumenta a quantidade de álcool devido a uma maior fermentabilidade do açúcar simples ou na forma de sacarose, chegando a um extrato real final bem próximo a 0, que não acontece em mostos ricos em maltose e dextrinas não fermentáveis, provenientes do malte, corroborando com o evidenciado pela Tabela 8, onde há maior consumo de açúcar nos mostos com mais laranja como adjunto evidenciado pela maior redução do extrato real durante a fermentação.

SENAI (1997), em estudo sobre fermentação de cervejas puro malte, cita que o grau aparente de fermentação (GAF) ao fim da fermentação e início da maturação deve estar em um intervalo de 68 a 75%. Das cervejas produzidas, apenas a puro malte e a cerveja substituída com 10% de suco de laranja possuem GAF, ou atenuação aparente (%) nesse intervalo, enquanto que as outras estão acima do intervalo, devido à maior fermentabilidade da frutose presente na laranja.

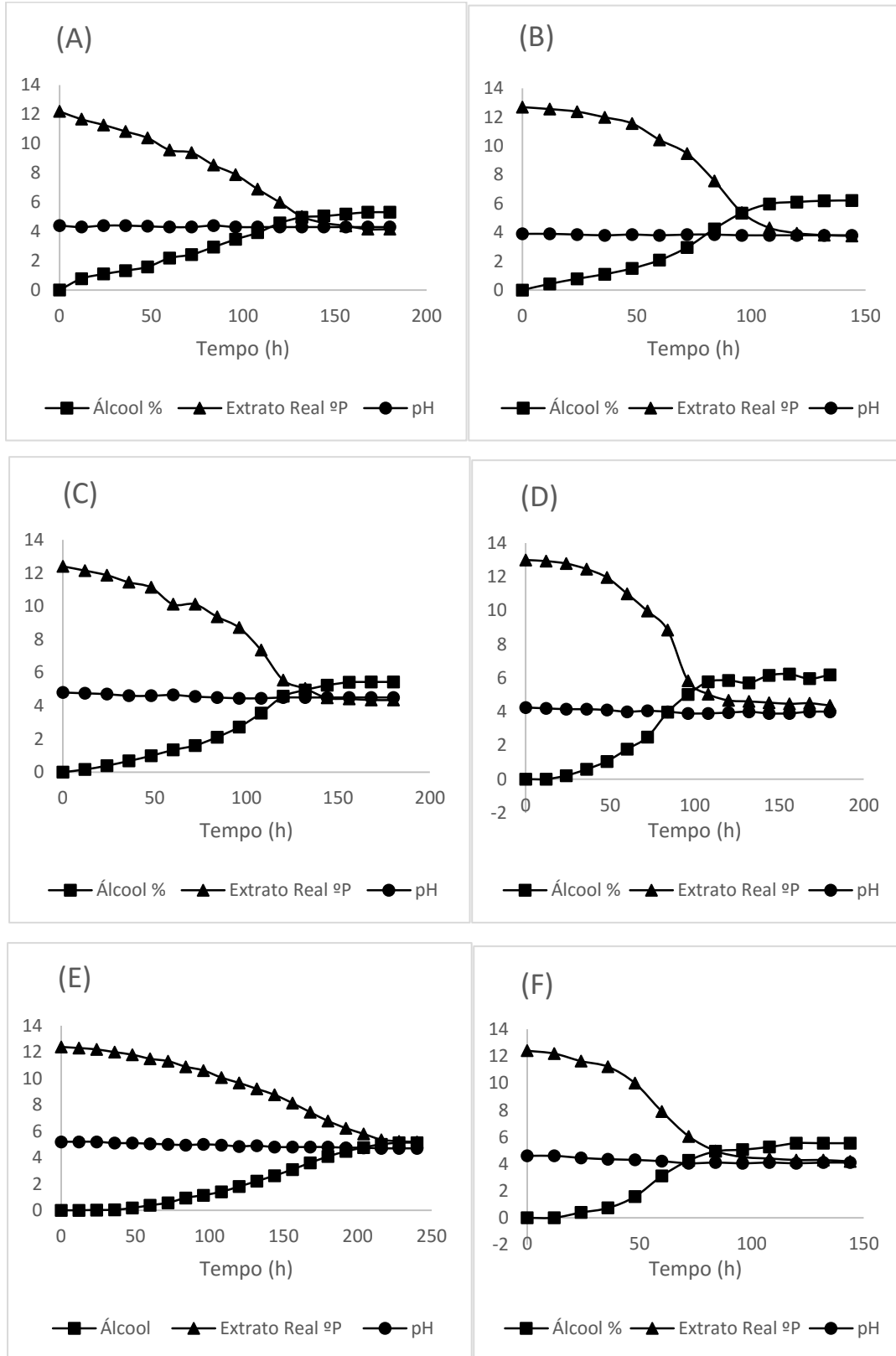
Cason (1987) e D'Amore (1989) estudaram a utilização de glicose e frutose em mostos com e sem maltose, onde discutiram sobre a preferência da levedura em fermentar a glicose do que a frutose, mas concluíram que em mostos cervejeiros em que a maltose foi parcialmente substituída por frutose, não houve aumento da fase lag no consumo de maltose, concluindo que a frutose não afeta na captação de maltose. Nas Figuras 9A-F e Figura 10, podem ser observados os perfis de formação de etanol e consumo de açúcar de cada uma das cervejas produzidas em que apresentam a fase lag de aproximadamente 48 horas. A partir daí é iniciada a fermentação. Duas fermentações foram mais demoradas, que é o caso da substituída com 10% de suco de laranja (Figura 9E) e a cerveja sem adjunto (Figura 10), enquanto que as cervejas feitas com FCOJ tiveram um tempo de fermentação ligeiramente menor, como pode ser observado nas Figuras 9B, D e F.

Na Figura 9a, que representa a formação de etanol das cervejas produzidas com 45% de suco de laranja, observa-se a formação de 5,31% de álcool e um pH

final de 4,3, enquanto que as cervejas produzidas com 45% de FCOJ alcançaram teor alcoólico superior à 6% e menor pH, 3,8, como pode ser observado na Figura 10. Eßlinger (2009) discute que o pH deve estar entre 4,3 e 4,6 após a fermentação para que a cerveja não apresente um caráter ácido. Por outro lado, Almeida e Silva (2005) sugere que uma faixa de pH de 3,89 a 4,57 é suficiente para possibilitar uma fermentação alcoólica eficiente, além de inibir bactérias indesejáveis. Manzano et. al. (2005) corroboram com essa afirmação dizendo que a faixa ideal de pH de uma cerveja deve estar entre 3,8 e 4,7, de acordo com o encontrado na Figura 9(A-F). A redução do pH ocorre devido a produção de ácidos orgânicos, como ácido acético, láctico e succínico (BORZANI; AQUARONI; LIMA, 1983)

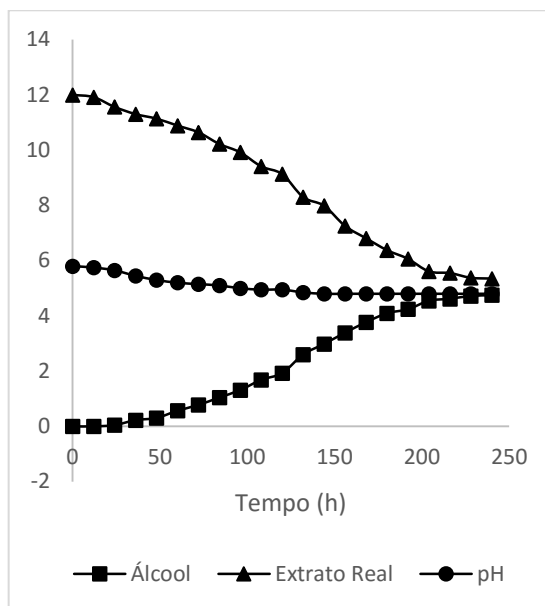
Pode-se observar na Figura 11 que a curva de produção de etanol para cada cerveja produzida em escala de bancada, onde na ordenada está representado o teor alcoólico e na abscissa o tempo, em horas. A produção de etanol apresentou algumas diferenças entre as cervejas, como o tempo, por exemplo, onde as cervejas puro malte e substituídas com 10% de suco de laranja levaram até 72 horas a mais que as substituídas com 10% e 45% de FCOJ, assim como Aizemberg (2015) que observou diferenças de até 48 horas para finalização da fermentação de cervejas produzidas com concentrações iguais de caldo e melado de cana.

Figura 9 - Perfil de formação de etanol e consumo de açúcar nas cervejas produzidas. (A) com 45% de suco de laranja, (B) com 45% de FCOJ, (C) com 25% de suco de laranja, (D) com 25% de FCOJ, (E) com 10% de suco de laranja, (F) com 10% de FCOJ.



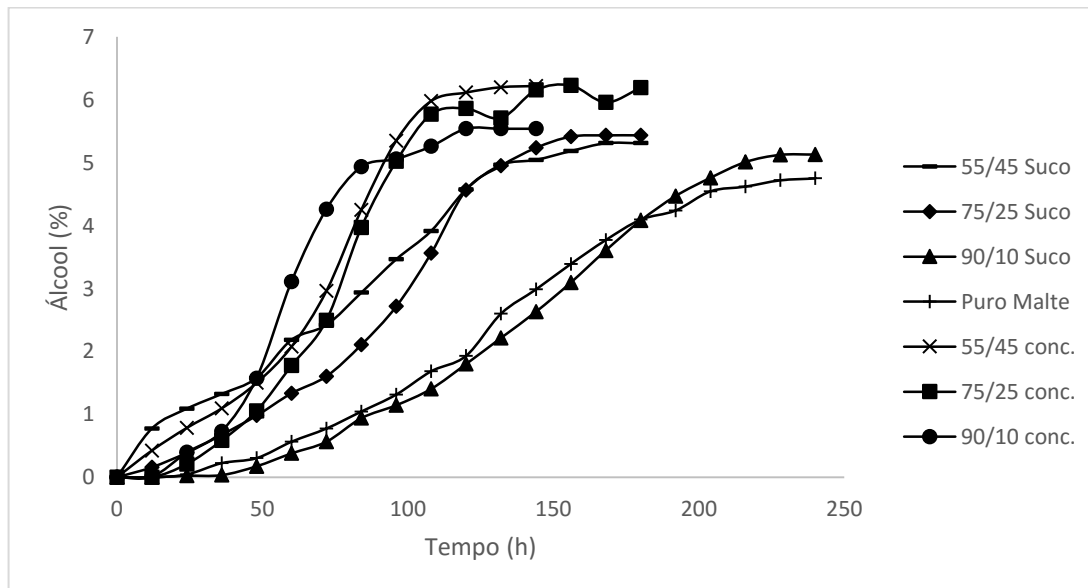
Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 10 - Perfil de formação de etanol e consumo de açúcar na cerveja puro malte.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 11 - Perfil de formação do etanol durante a fermentação de mostos com diferentes proporções de malte/adjunto.



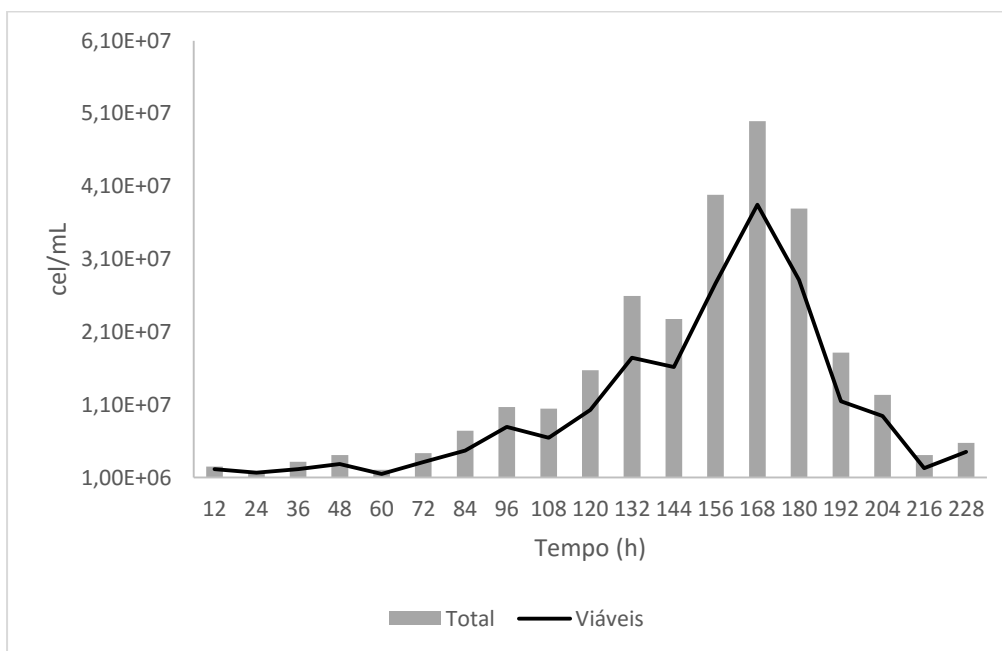
Fonte: Arquivo pessoal.

Para melhor compreensão sobre as diferenças entre os tempos de fermentação para cada cerveja, contagens de células totais e viáveis, também foram realizadas a cada 12 horas de fermentação. Como pode ser observado nas Figuras 12 e 13, em todas as fermentações a quantidade de células no meio

aumenta até atingir um pico de quantidade entre $6,0 \times 10^7$ e $7,0 \times 10^7$ células por mL, com exceção da bebida sem adjunto (Figura 12) e da bebida substituída com 45% de suco de laranja (Figura 13A) que possuíram um máximo de células um pouco abaixo dessa faixa.

Apesar de todas as cervejas terem utilizado a mesma quantidade sugerida (em gramas), pelo fabricante, de fermento liofilizado, previamente hidratado, a cerveja controle apresentou menor quantidade de células na primeira contagem do que as outras cervejas, $2,5 \times 10^6$ células totais por mL do mosto e $2,15 \times 10^6$ células viáveis por mL. Este fato pode ter resultado em maior tempo de fermentação, como mostrado pela Figura 10.

Figura 12 - Números de células totais e viáveis em suspensão durante a fermentação do mosto cervejeiro sem adição de adjunto de malte.



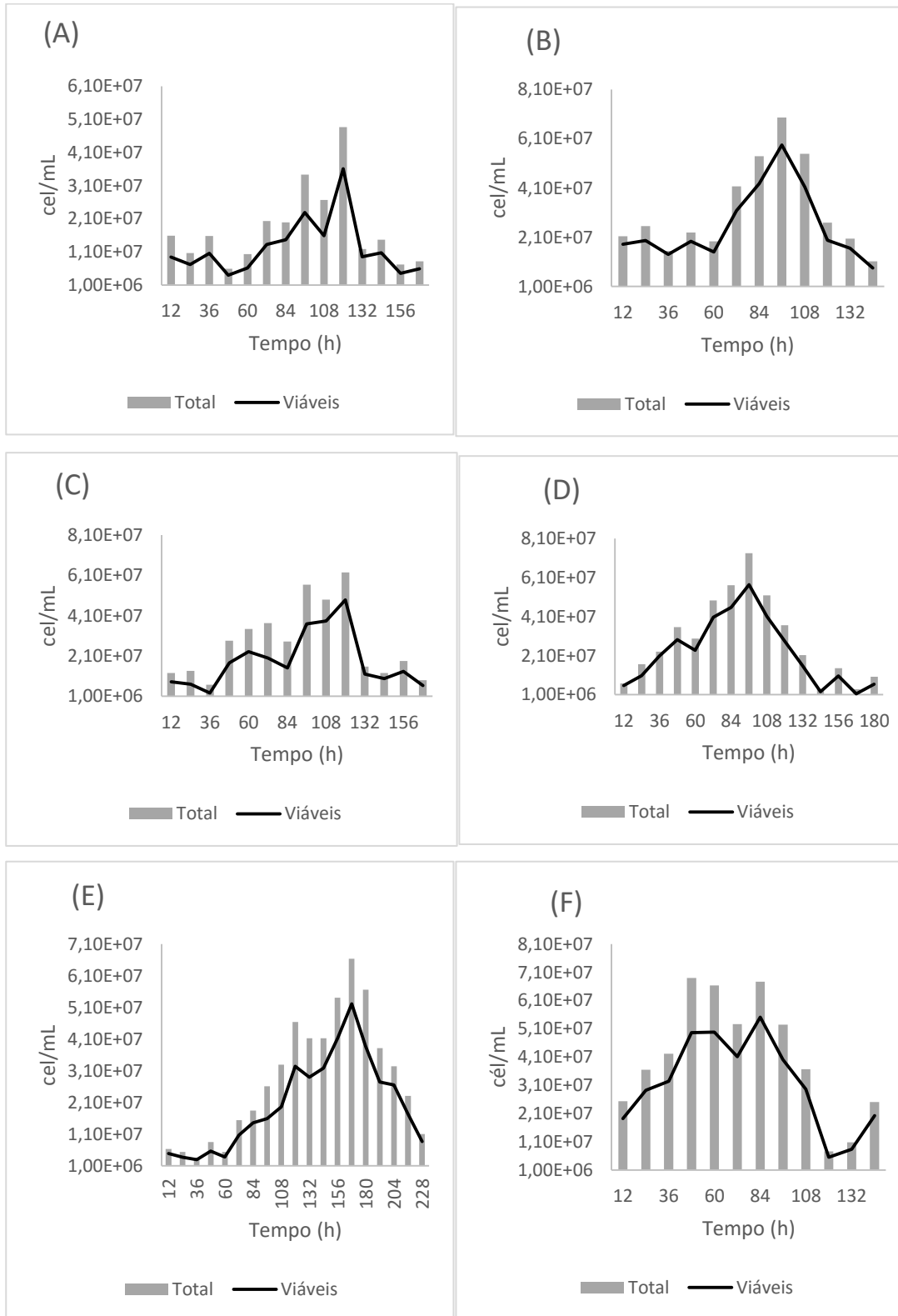
Fonte: Arquivo pessoal.

Algumas cervejas apresentaram, no começo da fermentação, uma diminuição na quantidade de células, totais ou viáveis. Matos (2009) sugere que essa queda é normal, já que é um período em que a levedura está se adaptando ao meio e sintetizando as enzimas necessárias para metabolizar os componentes existentes no mosto. Naturalmente, observa-se em todas as cervejas, após um tempo de fermentação, uma redução gradual da concentração de células em

suspensão em uma fase que ocorre lise celular, autólise ou rompimento das leveduras, provocado pela ação de enzimas intracelulares. Nessa fase, há a floculação de leveduras do mosto quando a glicose é utilizada durante a fermentação, como discute Engasser (1981).

Observando os gráficos (Figuras 12 e 13) obtidos pela contagem de células de levedura no mosto a cada 12 horas de fermentação, pode-se traçar um paralelo entre o aumento na quantidade celular e a produção de etanol na bebida produzida (Figuras 9 e 10), quando, conforme o mosto é fermentado e acaba a fase *lag*, a contagem celular aumenta em todos os mostos, conforme relata Munroe (2006) que caracteriza um típico processo de fermentação cervejeira.

Figura 13 - Números de células totais e viáveis em suspensão durante a fermentação dos mostos cervejeiros complementados com (A) 45% de suco de laranja, (B) 45% de FCOJ, (C) 25% de suco de laranja, (D) 25% de FCOJ, (E) 10% de suco de laranja e (F) 10% de FCOJ.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.5 Análise sensorial das cervejas obtidas em escala de bancada

5.5.1 Caracterização dos provadores

Utilizando-se do questionário preenchido durante a análise sensorial (Figura 7) foi possível caracterizar os provadores nos seguintes aspectos:

- Sexo: População de 61,19% de homens e 38,81% de mulheres;
- Idade: Foi dividida em três grupos, de 18 a 21 anos, 22 a 26 anos, e mais de 27 anos. A porcentagem de cada grupo foi, respectivamente, 25,31%; 27,61%; e 47,01%.

5.5.2 Aceitação e intenção de compra

Finalizadas as etapas de fermentação e maturação, e feito o envase de todas as bebidas, as diferentes cervejas foram avaliadas sensorialmente, a fim de se obter um perfil de aceitação de cada bebida. Na Tabela 9, podem ser observadas as avaliações de impressão global e intenção de compra de cada uma das cervejas produzidas na escala de bancada.

Pode ser observado que todas as cervejas obtiveram aceitação satisfatória, visto que a maioria das notas de impressão global estão compreendidas entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, enquanto que três das bebidas, sendo uma delas, a controle, estão compreendidas entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”, não havendo diferença significativa entre elas. A bebida em que foi utilizado concentrado de laranja em uma taxa de 25%, foi tão aceita quanto a puro malte, estatisticamente em um nível de confiança de 5%, segundo o teste Tukey.

Em relação a intenção de compra, ambas as bebidas em que foram utilizados 10% de adjunto e a bebida em que foi utilizado 25% de concentrado de laranja apresentaram notas estatisticamente similares à puro malte. No entanto,

comparando as bebidas entre si, pôde-se perceber que a bebida com 25% de concentrado não teve intenção de compras estatisticamente similar à 90/10 com suco de laranja, o que foi levado em conta na escolha da bebida mais aceita para produção em escala piloto.

Tabela 9 - Notas de aceitação em análise sensorial das diferentes bebidas obtidas, puro malte e com diferentes proporções de suco e concentrado de laranja.

Aceitação	Impressão Global	Intenção de Compra	Amostra
	^a 7,3±1,4	^{c,d} 3,8±0,99	Puro Malte
	^a 7,29±1,08	^c 3,93±0,82	Suco 90/10
	^b 6,63±1,40	^e 3,34±1,08	Suco 75/25
Nota	^b 6,17±1,62	^f 3,06±1,15	Suco 55/45
	^a 7,25±1,29	^{c,d} 3,91±1,07	Conc. 90/10
	^a 6,84±1,53	^{d,e} 3,59±1,07	Conc. 75/25
	^b 6,34±1,65	^f 3,25±1,15	Conc. 55/45

^{a,b,c,d,e} Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de confiança de 5%, segundo teste de Tukey.

Fonte: Arquivo pessoal.

Carvalho (2009), que utilizou banana na cerveja com o objetivo de adicionar sabor e aroma no produto final, constatou em análise sensorial, que a bebida produzida foi bem aceita quando comparada a uma amostra comercial. Assim como Santos (2011) e Hendges (2014) que obtiveram cervejas com avaliações compreendidas entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, com cervejas feitas com arroz preto e quinoa, respectivamente, como adjunto de malte. Diferentemente, Batista (2014) obteve bebidas complementadas com pinhão com aceitações compreendidas entre os valores de 3,84, com 80% de pinhão com casca, e 5,3, com 10% de pinhão com casca. Castro (2014), por sua vez, obteve aceitações compreendidas entre “gostei moderadamente” e “gostei muito” em suas cervejas superconcentradas com utilização de xarope de milho como adjunto de malte, semelhante as notas obtidas utilizando 10% de suco e concentrado de laranja.

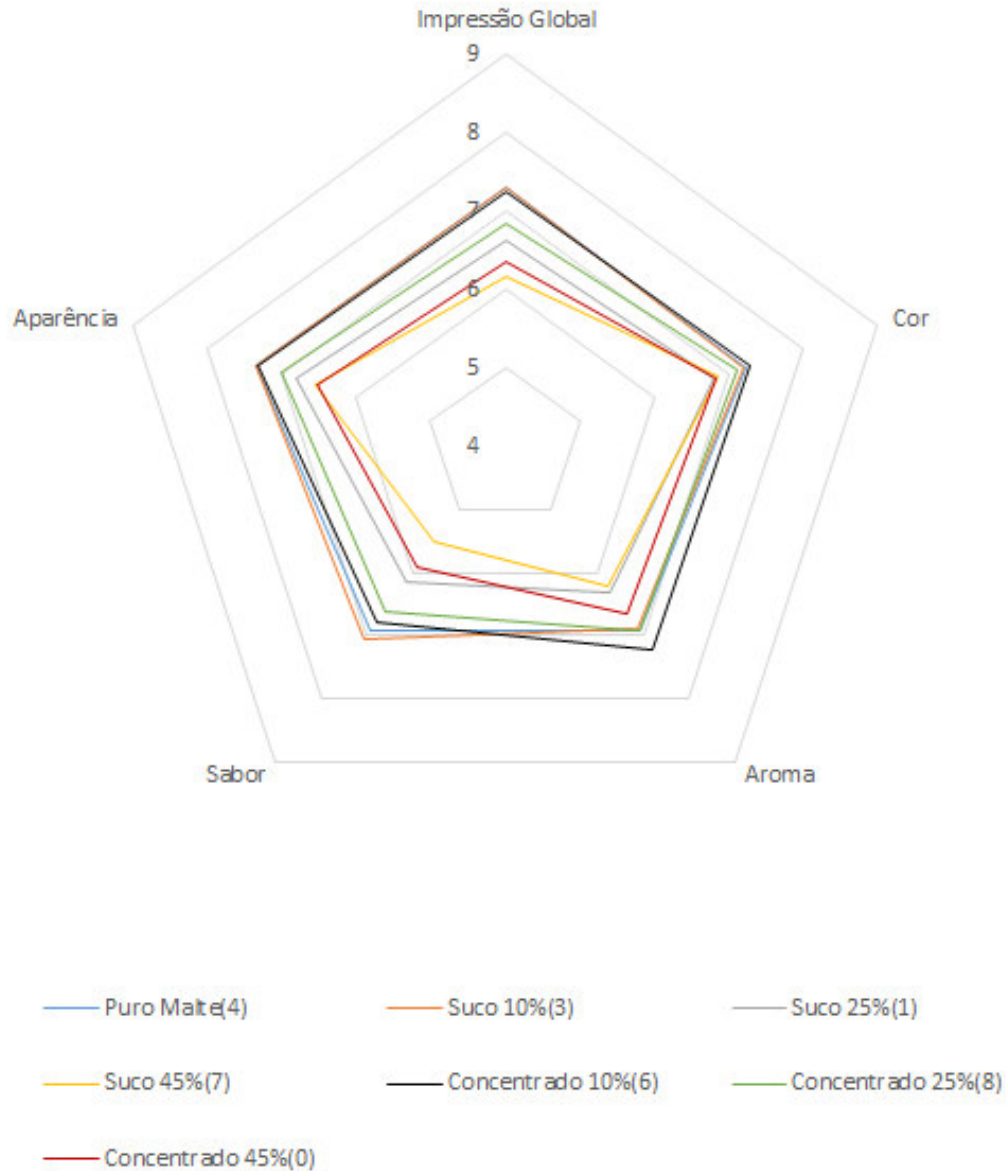
A Figura 14 fornece um panorama geral das notas de cada atributo para cada cerveja produzida em escala de bancada, mostrando que a puro malte e ambas as cervejas substituídas com 10% de adjunto obtiveram notas mais altas em todos os atributos. Apesar de que na avaliação da cor, as notas de todas as cervejas serem mais próximas, nota-se que a aparência possui maior discrepância entre as 10% e as 45%, devendo-se, provavelmente, a má retenção de espuma das cervejas com maior quantidade de adjunto. Além disso, observa-se que as bebidas substituídas com 45% de adjunto obtiveram as menores notas em todos os atributos, ainda que compreendidas entre “nem gostei nem desgostei” e “gostei ligeiramente” ou “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”.

As maiores disparidades entre amostras se deu nos parâmetros de aroma e, principalmente, sabor entre as amostras substituídas com 10% de suco ou concentrado e as cervejas em que o malte foi substituído com 45% de adjunto. Assim, a diminuição das notas da impressão global conforme aumento de adjunto, deve-se aos parâmetros sensoriais de aroma e sabor, principalmente, já que as notas de cor e aparência foram mais próximas umas às outras.

A Figura 15 mostra a forma em que as bebidas eram servidas e codificadas com três números para a execução da análise sensorial. O número central classificava a amostra (entre parênteses na Figura 14), enquanto que os números das pontas eram aleatórios. Foram servidas água e bolacha de água para limpeza de paladar antes da degustação e, finalmente, uma bala para ser consumida após a análise sensorial, como agradecimento pela participação.

A Figura 16 apresenta uma das bebidas produzida em escala de bancada pelo processo proposto nesse trabalho. As bebidas possuíram uma característica amarelo ouro com turbidez aumentando conforme o aumento de adjunto. O tempo de retenção de espuma também diminuiu conforme aumentava a proporção de adjuntos.

Figura 14 - Representação espacial das médias de cada atributo, obtidas a partir do teste de aceitação para cada bebida produzida.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 15 - Amostras servidas durante a análise sensorial foram codificadas e servidas com água e bolacha.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 16 - Cerveja produzida em escala de bancada utilizando laranja como adjunto de malte.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.6 Produção em escala piloto

5.6.1 Produção do mosto

As análises sensoriais e estatísticas resultaram em três possíveis receitas de cervejas que foram estatisticamente aceitas quando comparadas com as amostras de cerveja puro malte, ambas as 90/10 e a 75/25 com concentrado. No entanto, ao comparar a 75/25 com concentrado e a 90/10 com suco, verificou-se diferença estatística na intenção de compras, o que fez com que a produção da proporção 25% com concentrado de laranja na planta fosse descartada.

A escolha de produção de cerveja substituída com 10% de concentrado de laranja a cerveja com 10% de suco de laranja foi feita devido a maior facilidade de estocagem, empacotamento, sistema de inventário e manuseio do concentrado quando comparado ao suco (Tavares, 2007). Além disso, como discutido por Pupin (1999) e Janzantti (2011), o suco concentrado é a principal forma de comercialização e exportação do suco de laranja, sendo, portanto, a mais provável escolha deste tipo para uma cervejaria. Além disso, como discutido no item 5.3, foi observado entupimento de equipamento durante a produção dos mostos contendo suco de laranja pasteurizado, devido a presença de fibras e vesículas.

Observa-se na Tabela 10, as características do mosto produzido para a posterior fermentação. Foram produzidos 115 litros do mosto com 11,8 °Brix (medido com refratômetro logo após a fervura) e pH 4,75. Comparando o mosto obtido entre os mostos da escala de bancada e escala piloto, pode-se supor uma boa reprodutibilidade entre as formas de produção do mosto, já que tiveram pH e °Brix do mosto pós fervura, ou extrato original, bem similares.

Tabela 10 - Características do mosto produzido em escala piloto.

Mosto	Escala Piloto
Brix adjunto	57,57
Brix Mosto Primário	14,5
Brix mosto pré fervura	9
Brix mosto final	11,8
Volume mosto pós fervura (L)	115
Volume Trub (L)	5
pH	4,75

Fonte: Arquivo pessoal.

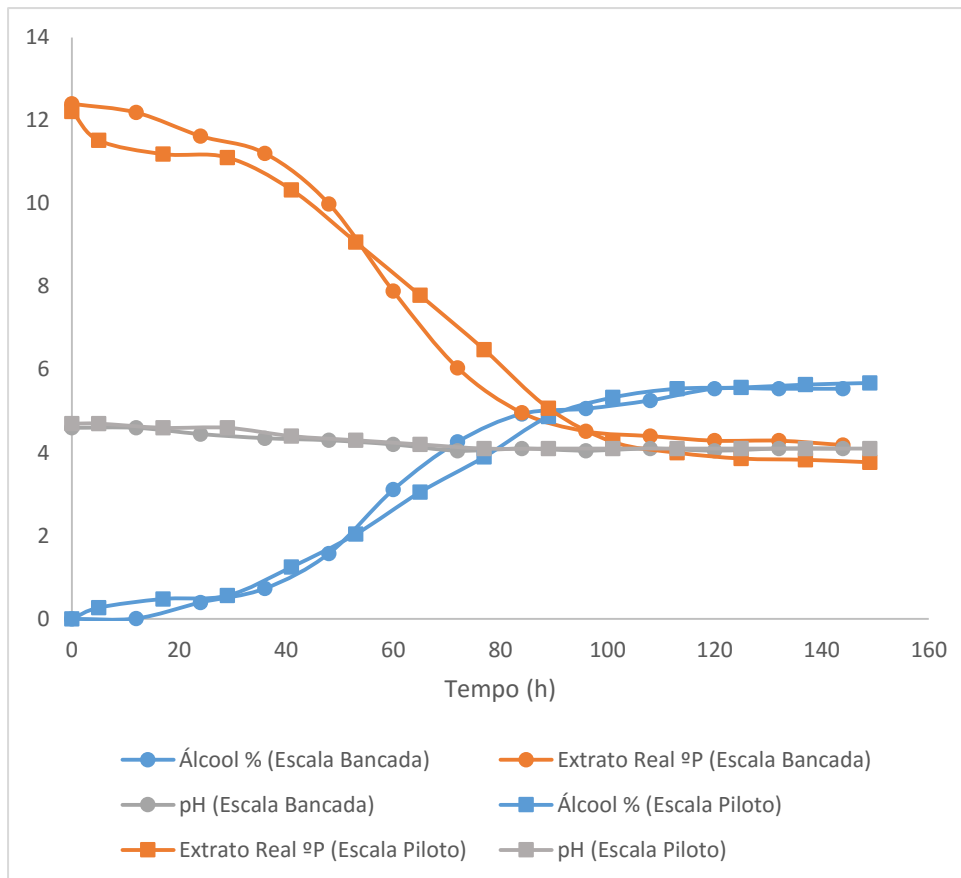
5.6.2 Acompanhamento da fermentação

A fermentação a temperatura de 12°C, mostra o perfil de produção de etanol, consumo de açúcar e redução de pH (Figura 17), em que foi feita uma comparação entre as fermentações conduzidas em escala de bancada e escala piloto das bebidas com a mesma proporção do mesmo adjunto.

Na cor laranja, observam-se as duas curvas do consumo de açúcar, observado através da redução do extrato real (°Plato), quase sobrepondo-se uma a outra, fazendo com que, conseqüentemente, as curvas de produção de etanol fossem bastante parecidas. Assim, ao final do período de fermentação, com 150 horas após o inóculo, observa-se na cerveja feita em escala piloto e bancada, 5,68% e 5,54% de álcool, respectivamente. A curva de pH de ambas as cervejas também apresentou perfil similar iniciando a fermentação com um pH 4,7 e resultando em uma bebida com pH 4,1.

O GAF da bebida produzida em escala piloto foi 85,35% (Tabela 11), ligeiramente maior que o da cerveja produzida em escala de bancada que foi de 81,83% (Tabela 8). Como citado anteriormente, SENAI (1997) defende que em mostos puro malte, o GAF fica, geralmente, entre 68 e 75%. O maior valor de GAF deve-se, provavelmente, à maior fermentabilidade de mostos que possuem frutose no meio, corroborando com os dados de Cason (1987). Aizemberg (2015) também obteve um GAF de 79,90%, acima da faixa citada acima, em um mosto substituído com 25% de melado de cana, uma fonte de açúcar rica em sacarose, também mais fermentescível que a maltose e maltotriose de um mosto puro malte.

Figura 17 - Comparação entre a cinética de fermentação das cervejas produzidas em escala de bancada e escala piloto.



Fonte: Arquivo pessoal.

Ao final da fermentação, a bebida foi analisada e apresentou as características físico-químicas mostradas pela Tabela 11.

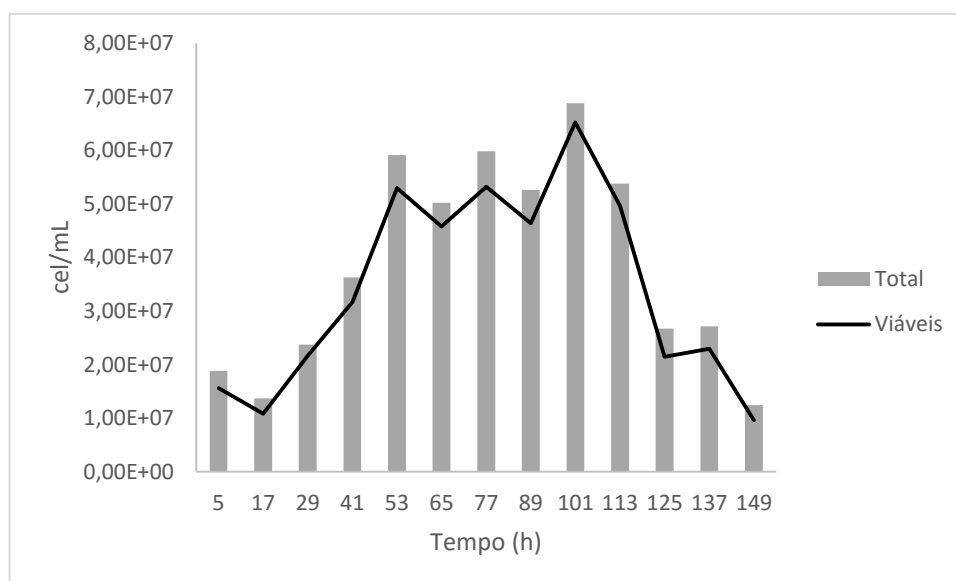
Assim como na cerveja produzida em escala de bancada, nota-se pela Figura 18, uma diminuição inicial da concentração de células seguida de um aumento da quantidade de células de levedura em suspensão conforme o tempo de fermentação, atingindo uma quantidade máxima de $6,88 \times 10^7$ células totais por mL e $6,52 \times 10^7$ células viáveis por mL depois de 101 horas do início da fermentação, quando, então, o número de células começou a reduzir coincidindo com a diminuição da velocidade de produção de etanol na cerveja, como pode ser visto na Figura 17. Esse declínio no número de células em suspensão ocorre como consequência da combinação da depleção de nutrientes, bem como o efeito tóxico do etanol para a própria levedura (BOULTON; QUAIN, 2001).

Tabela 11 - Análises físico-químicas da cerveja produzida, utilizando a Planta Piloto de Bebidas da Faculdade de Engenharia de Lorena, ao final da fermentação.

Análise Físico-química	Cerveja Piloto
Álcool (%)	5,68
Extrato Real (% m/m)	3,77
Extrato Original (°P)	12,39
Extrato Aparente (°P)	1,82
Atenuação Real (%)	70,97
Atenuação Aparente (%)	85,35
Densidade	1,00523
pH	4,1

Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 18 - Crescimento celular e viabilidade durante o processo fermentativo da cerveja feita em escala piloto.



Fonte: Arquivo pessoal.

Após o período de maturação, a cerveja foi filtrada em filtro de pratos com auxílio de terra diatomácea, proporcionando uma coloração mais límpida para a bebida finalizada (Figura 19) e, então, carbonatada por injeção de gás carbônico, processos que conferiram diferenças sensoriais para as cervejas produzidas em

escala de bancada e em escala piloto, devido às cores mais límpidas e à ausência de células de levedura na bebida finalizada.

Figura 19 - Cerveja produzida em escala piloto utilizando concentrado de laranja como adjunto de malte.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.6.3 Análise sensorial

Com a cerveja finalizada, a análise sensorial foi executada para verificar a aceitação da bebida frente a outras duas cervejas comerciais de mesma marca, sendo a “comercial A” uma cerveja tipo pilsen comum e a “comercial B” uma cerveja tipo pilsen extra. A aceitação e as intenções de compra de cada uma das cervejas estão representadas na Tabela 12.

Castro (2014), Hendges (2014) e Batista (2014) também compararam bebidas produzidas com xarope de milho, quinoa malteada e pinhão, respectivamente, a cervejas comerciais, obtendo notas de impressão global semelhantes as notas encontradas no presente estudo, onde não houveram diferenças estatísticas no atributo de impressão global ou intenção de compra nos estudos conduzidos por Castro (2014) e Hendges (2014) entre suas cervejas e as comerciais. Com a bebida com 10% de concentrado de laranja, também não foi observado diferença significativa com nenhuma das cervejas comerciais comparadas através das notas de impressão global, mas houve diferença significativa quando comparada a cerveja “Comercial A” para intenção de compra.

Tabela 12 - Notas de aceitação em análise sensorial das diferentes bebidas, sendo uma produzida em escala piloto e as outras duas amostras comerciais.

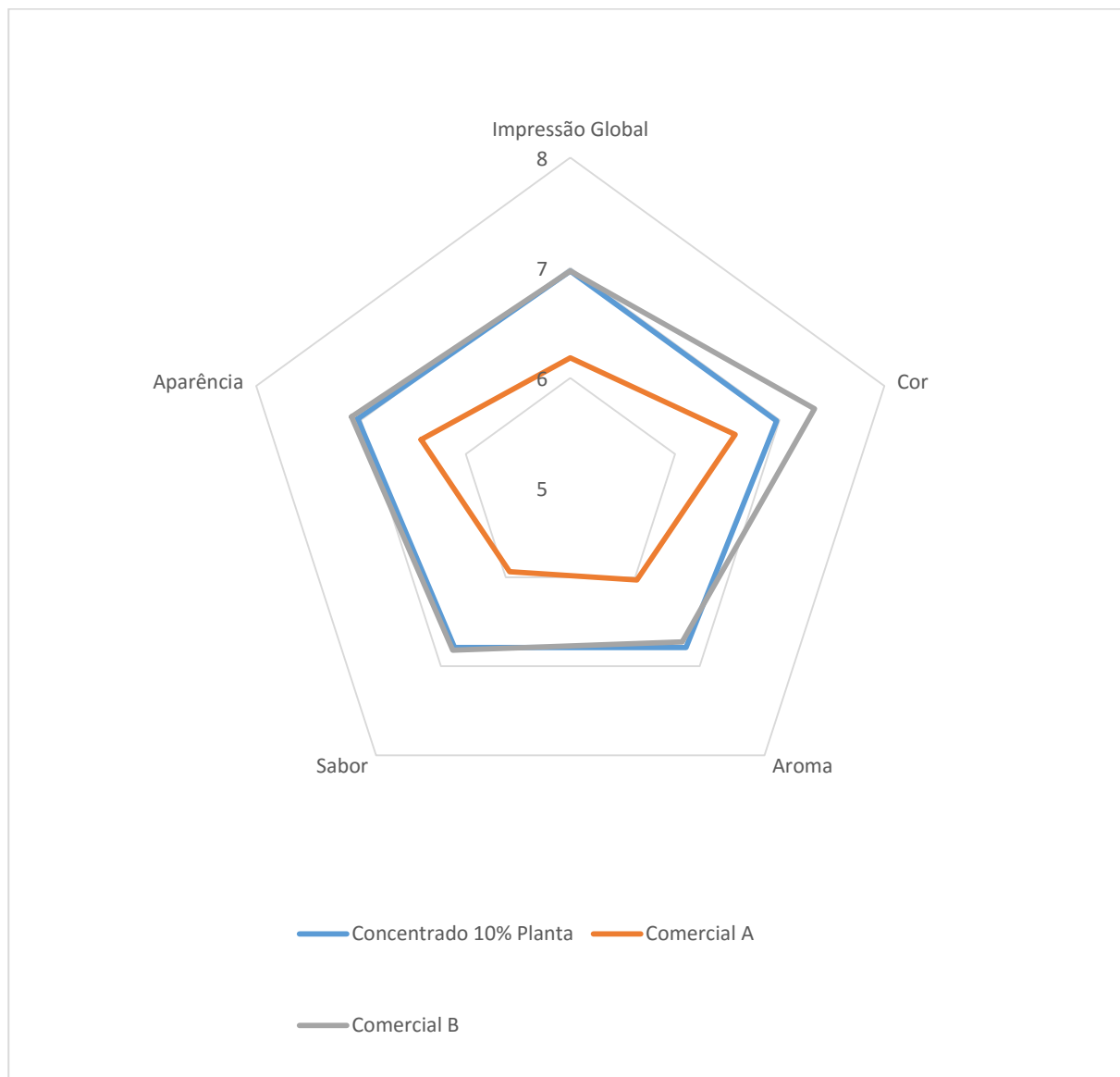
Aceitação	Impressão Global	Intenção de Compra	Amostra
	^a 6,97±1,61	^b 4,12±0,84	Conc. 10%
Nota	^a 6,18±1,75	^c 3,46±0,99	Comercial A
	^a 6,97±1,53	^b 3,97±1,00	Comercial B

^{a,b,c}Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de confiança de 5%, segundo teste de Tukey.

Fonte: Arquivo pessoal.

A Figura 20 apresenta uma comparação entre as notas de todos os atributos analisados para as cervejas durante a análise sensorial, em que é visível a semelhança entre as notas da cerveja “Comercial B” e a produzida neste estudo, e a maior nota de ambas as cervejas quando comparadas a cerveja “Comercial A”. No entanto, analisando-se estatisticamente, não pôde ser observada diferença significativa entre as cervejas em nenhum atributo sensorial do teste de aceitação.

Figura 20 - Representação espacial das médias de cada atributo, obtidas a partir do teste de aceitação para a bebida produzida em escala piloto e duas cervejas comerciais, sendo a Comercial A uma cerveja comum e a Comercial B uma cerveja extra.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.7 Produtividade em etanol

São representados na Tabela 13, os resultados dos cálculos de valores de produtividade em etanol, bem como o tempo de fermentação das cervejas produzidas, tanto em escala de bancada quanto da cerveja escolhida para ser feita em escala piloto. Através da análise da Tabela 13, pode ser verificado que as

produtividades calculadas neste trabalho apresentaram valores entre 0,16 e 0,34 g/L.h nas cervejas que foram produzidas com os sete mostos diferentes na escala de bancada e para a cerveja que foi produzida em escala piloto. O menor valor de produtividade em etanol, 0,16 g/L.h, foi obtido para a cerveja puro malte devendo-se a menor quantidade de etanol produzida com maior tempo de fermentação; enquanto que o maior valor obtido foi para a cerveja 55/45 com suco de laranja concentrado com um valor de produtividade em etanol de 0,34 g/L.h, devendo-se, inversamente ao que ocorreu na fermentação da cerveja sem adjunto de malte, à maior concentração de etanol produzido em um menor tempo de fermentação.

Para a cerveja na qual foi utilizado 10% de suco de laranja concentrado, verificou-se Q_p de 0,30 g/L.h em escala de bancada e um valor ligeiramente menor em escala piloto, 0,25 g/L.h.

Tabela 13 - Produtividade e tempo de fermentação das cervejas produzidas com diferentes quantidades de adjunto de malte.

Cerveja	Malte/Adjunto	Q_p (g/L.h)	Tempo (h)
Puro malte	100/0	0,16	240
Suco de laranja pasteurizado	55/45	0,22	192
	75/25	0,24	180
	90/10	0,17	240
Suco de laranja concentrado	55/45	0,34	144
	75/25	0,27	180
	90/10	0,30	144
Escala piloto (suco concentrado)	90/10	0,25	180

Fonte: Arquivo pessoal.

Santos (2015) obteve produtividade de 0,31 g/L.h em uma cerveja utilizando 10% de permeado de leite não hidrolisado, enquanto que Santos (2011) produziu uma cerveja substituída com 45% de arroz preto alcançando Q_p de 0,32 g/L.h, ambas as cervejas feitas em escala piloto e com valores semelhantes às cervejas produzidas no presente estudo. Diferentemente, Aizemberg (2015) obteve maiores

valores de produtividade alcançando 0,86 g/L.h em cervejas com 25 e 50% de caldo de cana parcialmente clarificado; valor semelhante ao encontrado por Carvalho (2009) que produziu uma cerveja com banana como adjunto e alcançou Q_p de 0,68 g/L.h em 72 horas de fermentação.

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- A utilização de laranja tanto na forma de suco pasteurizado como na forma de FCOJ é viável para utilização como adjunto do malte de cevada na produção de cervejas de baixa fermentação visto que houve fermentação, e consequente produção de etanol;
- As fermentações levaram entre 144 e 228 horas de fermentação com uma fase *lag* em que a levedura formou biomassa para começar uma fase mais rápida de fermentação. Todas as fermentações apresentaram atenuação aparente mínima satisfatória de acordo com o reportado na literatura, enquanto que cervejas com mais adjunto apresentaram atenuação aparente acima da faixa reportada como normal para mostos puro malte. A maior quantidade de adjunto proporcionou maior fermentabilidade aos mostos, visualizado pela atenuação aparente e produção de etanol em cada uma das fermentações;
- A utilização de laranja como adjunto produziu três bebidas com aceitação positiva em análise sensorial, sendo elas as com 10% de ambos os adjuntos e a 25% de FCOJ, enquanto que as outras bebidas produzidas obtiveram aceitação inferior à bebida controle;
- Houve reprodutibilidade para produção da cerveja com 10% de FCOJ como adjunto de malte em escala piloto, onde foram observados resultados semelhante entre as fermentações em escala de bancada e escala piloto;
- A cerveja produzida em escala piloto obteve aceitação igual ambas as cervejas comerciais utilizadas no estudo e intenção de compra superior a cerveja comercial A.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Acompanhar, em mostos substituídos com laranja como adjunto, o perfil de consumo dos açúcares ao longo da fermentação, quantificando-os.
- Produzir cervejas com laranja como adjunto utilizando diferentes cepas de levedura, *lager* e *ale*, analisando diferenças entre o perfil de consumo de açúcares pelas mesmas.
- Qualificar e quantificar teores de açúcar residual presente nas cervejas.
- Estudar a influência de nitrogênio amínico livres em mostos cervejeiros parcialmente substituídos por laranja, como adjunto.
- Estudar o efeito do aumento da proporção de adjunto na estabilidade da espuma.

REFERÊNCIAS

- AGU, R. C. Comparative study of experimental beers brewed from millet, sorghum and barley malts. **Process Biochemistry**, v. 30, n. 4, p. 1-3, 1995.
- AGU, R. C. A comparison of Maize, Sorghum and Barley as Brewing Adjuncts. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 1, p. 19–22, 2002.
- AITKEN, A. R.; BRUCE, A.; HARRIS, J. O.; SEATON, J. C. The bitterness of hop-derived materials in beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 76, p. 29-36, 1970.
- AIZEMBERG, R.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Preliminary assessment of water quality to be used in the brewing process. In: BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOOD AND BEVERAGES, 2012. Araraquara – SP. **Anais**. UNESP, 2012. p. 70.
- AIZEMBERG, R. **Emprego do caldo de cana e do melado como adjunto de malte de cevada na produção de cervejas**. 2015. 272p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena da USP, Lorena, 2015.
- ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Edgard Blucher, 2005. 550 p.
- ANDERSON, R.G. History of Industrial Brewing In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 853p.
- ANDREÂS-TOROA, B.; GIROÂN-SIERRA, J.M.; LOÂPEZ-OROZCOA, J.A.; FERNAÂNDEZ-CONDEA, C.; PEINADOB, J. M.; GARCÍAA-OCHOAC, F. A kinetic model for beer production under industrial operational conditions. **Mathematics and Computers in Simulation**, v. 48, p. 65-74, 1998.
- ALMEIDA e SILVA, J.B.; MEDEIROS, M.B.; BOLINI, H.M.A.; FERREIRA, F.B.; FURLAN, B.G.; GUSMÃO, F.P. **Avaliação sobre o potencial de alfa e de beta-ácido do lúpulo no controle biocida do processo fermentativo e sua influência no**

número de reciclagem na produção de cachaça. Lorena: USP/EEL, março de 2014 (Relatório final, Processo FAPESP 2010/19912-1).

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

ARRUDA, A. R.; CASIMIRO, A. R. S.; GARRUTI, D. S.; ABREU, F. A. P. Fermented banana beverage processing. **Revista Ciência Agronômica**, n. 34, p. 161-167, 2003.

ASBC – **Methods of Analysis of the American Society of Brewing Chemists.** Microbiology. 8th Revised Edition. Minnesota: The Technical Committee and the Editorial Committee of the ASBC, 1996.

BAMFORTH, C. W. **Beer: Tap into the Art and Science of Brewing.** 3rd ed. 2009.

BATISTA, R.A. **Produção e avaliação sensorial de cerveja com pinhão (Araucaria angustifolia).** 2014. 113p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

BELTRAMELLI, M. **Cervejas, brejas e birras.** São Paulo, SP: Leya, 2012. 319p.

BORZANI, W.; AQUARONI, E.; LIMA, U.A. **Engenharia Bioquímica,** São Paulo: Editora Edgard Blucher. 1983. v. 3.

BOTEON, M. **Cadeia Agroindustrial de Citros.** CEPEA. Disponível em: <http://www.cepea.esalq.usp.br/citros/cadeia_citros.pdf> Acesso em: 09 mar. 2015.

BOULTON, C.; QUAIN, D. Biochemistry of fermentation. In: _____. **Brewing Yeast and Fermentation.** London: Blackwell Science Ltd, 2001. cap. 3, p. 69-142.

BOULTON, C., **Encyclopedia of Brewing.** United Kingdom: Wiley-Blackwell, 2013. 707p.

BRAGA, V. S. **A influência da temperatura na condução de dois processos fermentativos para produção de cachaça**. 2006. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba - SP, 2006.

BRANDAM, C.; MEYER, X.M.; PROTH, J.; STREHAIANO, P.; PINGAUD, H. An original kinetic model for the enzymatic hydrolysis of starch during mashing. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 1, p. 43-52, jan. 2003.

BRASIL. Instrução Normativa nº 54, de 5 de novembro de 2001. **Regulamento Técnico Mercosul de produtos de cervejaria**. Diário Oficial. Brasília, 07 nov. 2001.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial. Brasília, 05 jun. 2009. Seção 1.

BRAVI, E.; PERRETTI, G.; BUZZINI, P.; DELLA SERA, R. FANTOZZI, P. Technological Steps and Yeast Biomass as Factors Affecting the Lipid Content of Beer during the Brewing Process. **J. Agric. Food Chem.** 2009, 57, p. 6279-6284.

BRIGGS, D.E. et. al. **Brewing: Science and Practice**. Cambridge: CRC Press, 2004. 863 p.

CARDELLO, H. M. A. B. **Análise Sensorial de Aguardentes**. BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOOD AND BEVERAGES, 2, Book of Abstracts, Araraquara: Gráfica UNESP, 1999.

CARVALHO, G. B. M. **Obtenção de cerveja utilizando banana como adjunto e aromatizante**. 2009. 163 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2009.

CASON, D.T.; REID, G.C.; GATNER, E.M.S., Pitching rates related to glucose and fructose utilization. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 93, p. 506-508, 1987.

CASTRO, O.M. **Obtenção de cerveja super concentrada com a utilização de xarope de milho como adjunto de malte**. 2014. 143p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

CEREDA, M. P. Cervejas. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e Bebidas Produzidos por Fermentação**. São Paulo. Edgar Blucher, 1983. p. 3-78.

CEPPI, E. L. M.; BRENNAN, O. V. Brewing with Rice Malt - A Gluten-free Alternative. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 116, n. 3, p. 275-279, 2010.

CITRUSBR. **Exportações Brasileiras do Complexo Citrícola**. CITRUSBR, 2012. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/exportadores-citricos/setor/exportacoes-brasileiras-do-complexo-citricola-193132-1.asp>> Acesso em: 10 mar 2015.

COGHE, S.; VANDERHAEGEN, B.; PELGRIMS, B.; BASTEYNS, A.-V.; DELVAUS, F., Characterization of dark specialty malts: new insights in color evaluation and pro- and antioxidative activity. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 61, p. 125–132, 2003.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Quim. Nova**, v. 24, p. 449-452, 2001.

D'AMORE, T.; RUSSEL, I.; GRAHAM, G.S., The effect of carbohydrate adjuncts on brewer's wort fermentation by *Saccharomyces uvarum* (carlbergensis). **Journal of the Institute of Brewing**, v. 95, p.333-336, 1989.

DANIELS, R. Using Hops and Hop Bitterness. In: DANIELS, R. **Designing Great Beers: The ultimate guide to brewing classic beer styles**. Boulder: Brewers Publications, 2000. p. 72-90.

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

DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, V. P. R. Grupo de foco. In: MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 2006. cap. 4, p. 85-108.

DELLA LUCIA, S. M. **Métodos estatísticos para avaliação da influência de características não sensoriais na aceitação, intenção de compra e escolha do consumidor**. 2008. 116f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa- MG, 2008.

DELOS, G. **El gran libro de las cervezas**. Barcelona: Iberlibro, 2008. 240p.

DRAGONE, G.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo, SP: Blucher, 2010. v. 1. 492 p.

DIMAS, N. D. **Análise química da cerveja 2M em termos dos teores de Ca,Cu, Fe, K, Mg, Na, e Zn e verificação da contribuição dos teores destes 127 elementos a partir da água e do malte**. 2010. 45f. Trabalho de Licenciatura, Faculdade de Ciências, Departamento de Química, Maputo, 2010.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**, Curitiba: Editora Champagat, 1996. 122p.

ENGASSER, J. M.; MARC, I.; MOLL, M.; DUTEURTRE, B.; Kinect Modeling of Beer Fermentation. In: EUROPEAN BREWERY CONVENTION 18, 1981, Copenhagen.

ESCUADERO-LOPEZ, B.; CERRILO, I.; HERRERO-MARTIN, G.; HORNERO-MENDEZ, D.; GIL-IZQUIERDO, A.; MEDINA, S.; FERRERES, F.; BERNÁ, G.; MARTIN, F.; FERNANDÉZ-PACHÓN, M. S., Fermented orange juice: Source of higher carotenoid and flavone contents. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 61, n. 37, p. 8773-82, 2013.

EBLINGER, H.M. Fermentation, Maturation and Storage. In **Handbook of Brewing**. Weinheim, Germany: WILEY-VCH, 2009. p. 207-224.

FAO. **Citrus: Statistics – fresh and processed citrus fruit**. FAO, 2012. Disponível em:

<http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Citrus/Documents/CITRUS_BULLETIN_2012.pdf> Acesso em: 10 mar. 2015.

FUMI, M. D.; GALLI, R.; LAMBRI, M.; DONADINI, G.; DE FAVERI, D. M. Effect of full-scale brewing process on polyphenols in Italian all-malt and maize adjunct lager beers **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 568–573, 2011.

FAO. **Citrus: Statistics – fresh and processed citrus fruit**. FAO, 2012. Disponível em:

<http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Citrus/Documents/CITRUS_BULLETIN_2012.pdf> Acesso em: 10 mar. 2015.

FUMI, M. D.; GALLI, R.; LAMBRI, M.; DONADINI, G.; DE FAVERI, D. M. Effect of full-scale brewing process on polyphenols in Italian all-malt and maize adjunct lager beers **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 568–573, 2011.

GOODE, D. L.; ARENDT, E. K. Pilot Scale Production of a Lager Beer from a Grist Containing 50% Unmalted Sorghum. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 109, n. 3, p. 208–217, 2003.

GORZOLKAA, K. et al. Metabolite fingerprinting of barley whole seeds, endosperms, and embryos during industrial malting, **Journal of Biotechnology**, v. 159, p. 177– 187, 2012.

HARDWICK, W. A. **Handbook Brewing**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1994. 714p.

HENDGES, D.H. **Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto**. 2014. 95p. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

HEINRICH MEIER, G. **Beer Production**. Market. Leaders and their Challengers in the Top 40 Countries in 2012. Barth-Haas Group e Germain Hansmaennel. Alemanha: Joh.

Barth & Sohn GmbH&Co.16 p. 2013. Disponível em: <http://www.barthhaasgroup.com/johbarth/images/pdfs/report2013/Barth_Beilage_2013.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2014.

HEINRICH MEIER, G. **The Barth Report**. Barth-Haas Group e Germain Hansmaennel. Alemanha: Joh. Barth & Sohn GmbH&Co. 32p. 2014. Disponível em: <http://www.barthhaasgroup.com/images/pdfs/reports/2014/BarthReport_2013-2014.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2015.

HENDGES, D.H. **Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto**. 2014. 95p. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

HISS, H. Cinética de Processos Fermentativos. In: SCHMIDELL, W; ALMEIDA LIMA, U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**. Engenharia Bioquímica. São Paulo: Edgar Blucher, 2001. p. 93-121. v. 2

IIORI, M. A. The use of sorghum for beer brewing in Nigeria. **Technovation**, v. 11, n. 1 p. 27-37, 1991.

JACKSON, M. Guias: **Cerveja**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Jorge Zahar Ed., 2010. 288p.

JASKULA-GOIRIS, B.; AERTS, G.; COOMAN, L. D. Hop α -acids isomerisation and utilisation: an experimental review. **Cerevisia**, v. 35, p. 57–70, 2010.

JANZANTTI, N.S.; MACHADO, T.V.; MONTEIRO, M., Sensory acceptance of juice from FCOJ processing steps. **Journal of Sensory Studies**, v. 26, p. 322-330, 2011.

KLOSE, C. et al. Brewing with 100% Oat Malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 117, n. 3, 411–421, 2011.

KOCH, G., ALLYN, M., **The Brewer's Apprentice**. Quarry, USA, 2011, 192p.

KUNZE, W., **Technology Brewing and Malting**. 2nd ed., Berlin: VLB, 1999. p. 60-75.

LEIPER, K. A., MIEDL, M. Brewhouse Technology In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 853p.

LEWIS, M. J.; YOUNG, T. W. **Brewing**. London: Chapman & Hall, 1995. 260p.

LINKO, M.; HAIKARA, A.; RITALA, A.; PENTTILA, M. Recent advances in the malting and brewing industry. **Journal of Biotechnology**, n. 65, p. 85-98, 1998.

LUGASI, A. Polyphenol content and antioxidant properties of beer. **Acta Alimentaria**, v. 32, n. 2, p. 181-192, 2003.

MANZANO, M. et al. Microbiological analyses of dry and slurry yeasts for brewing. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 111, n. 2, p. 203–208, 2005.

MARDEGAN, S. F.; ANDRADE, T. M. B.; DE SOUSA NETO, E. R.; DE CASTRO VASCONSELOS, E. B.; MARTINS, L. F. B.; MENDONÇA, T. G.; MARTINELLI, L. A., Stable carbon isotopic composition of Brazilian beers: A comparison between large- and small-scale breweries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 52-57, 2013.

MATOS, G. F.; TEIXEIRA, J. A.; SILVA, D. P.; VICENTE, A. A.; FELIPE, M. G. A.; SILVA, J. B. A.; CARVALHO, G. B. M. **Análise da fermentação em biorreatores cilíndricos de bancada na elaboração de cerveja com adjunto de banana**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 17., 2009. Natal/RN.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: estudo com consumidores**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2006. 225 p.

MONTEIRO, C. L. B. **Técnicas de avaliação sensorial**. 2ª ed. Curitiba: CEPPA, 1984. 101 p.

MORADO. **Larousse da cerveja**. Larousse do Brasil. 2009.

MUNROE, J. H. F. Aging and Finishing In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 853p.

NOGUEIRA, L. C.; SILVA, F.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; TRUGO, L.C. Separation and quantification of beer carbohydrates by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1065, p. 207–210, 2005.

NGAPO, T. M.; DRANSFIELD, E.; MARTIN, J. F.; MAGNUSSON, M.; BREDAHL, L.; NUTE, G. R. Consumer perceptions: pork and pig production. Insights from France, England, Sweden and Denmark. **Meat Science**, v. 66, n. 1, p. 125-134, 2003.

PALMER, G. H. Barley and Malt In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 853p.

PALMER, J., **How to Brew**. 330p. Disponível em: <<http://www.howtobrew.com/intro.html>> Acesso em: 27 mar. 2015.

PELCZAR JR., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: MAKRON Books, 1996. p. 333.

PELTER, M. W.; MCQUADE, J. Brewing Science in the Chemistry Laboratory: A “Mashing” Investigation of Starch and Carbohydrates, **J. Chem. Educ.**, v. 82, n. 12, p. 1811, 2005.

POLLOCK, J. R. A. **Brewing Science**. London: Academic Press. 1979. 604p. v. 1.

PUPIN, A.M.; DENNIS, M.J.; TOLEDO, M.C.F., HPLC analysis of carotenoids in orange juice, **Food Chemistry**, v. 64, p. 269-275, 1999.

PUSECKER, K.; ALBERT, K.; BAYER, E. Investigation of hop and beer bitter acids by coupling of high-performance liquid chromatography to nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Chromatography A**, v. 836, p. 245-252, 1999.

REINOLD, M. R. **Manual prático de cervejaria**. São Paulo: Aden, 1997. 214p.

RIBEIRO, F. J.; LOPES, J. J. C.; FERRARI, S. E. Complementação de nitrogênio de forma contínua no processo de fermentação alcoólica. **Brasil Açucareiro**, v. 105, n. 1, p. 26-30, 1987.

ROBERTS, T. R.; WILSON, J. H. Hops In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 853p.

RUSSEL, I. Yeast. In: HARDWICK, W. A. ed. **Handbook of brewing**. New York: Marcel Dekker, 1994. cap. 10, p. 169-186.

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

SANTOS, B. B. **Utilização do permeado de leite como adjunto de malte na produção de cerveja de alta fermentação (ale)**. 2015. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena da USP, Lorena, 2015.

SENAI. **Conheça a cerveja**. Rio de Janeiro: Setor de Documentação Bibliográfica do CENATEC de Produtos Alimentares do SENAI – DR/RJ, Vassouras, 1997.

SILVA, D. P. **Produção e avaliação sensorial de cerveja obtida a partir de mostos com elevadas concentrações de açúcares**. 2005. 177f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial), Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, 2005.

SILVA, P.H.A.; FARIA, F.C. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.28 n.4, p. 902-906, out./dez. 2008.

SLEIMAN, M. **Determinação do percentual de malte de cevada em cervejas tipo pilsen utilizando os isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$).** 2006. 87f. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agronômicas, Unesp, Botucatu, 2006.

SHWAN, R. F.; CASTRO, H. A. Fermentação. In: CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana de açúcar.** Lavras: Ed. UFLA, 2001. cap. 3, p. 113-128.

TAVAREZ, D.T.; ALCANTARA, M.R.; TADINI, C.C.; TELIS-ROMERO, J., Rheological Properties of Frozen Concentrated Orange Juice (FCOJ) as a Function of Concentration and Subzero Temperature. **International Journal of Food Properties**, v. 10, p. 829-839, 2007.

TAYLOR, B. Fruit juice and processing In: ASHURST, P.R. **Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices.** 2nd ed. United Kingdom: Blackwell Publishing, 2005. 374p.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de cerveja.** Jaboticabal: Funep, 2000. 83 p.

VERZELE, M.; DE KEUKELEIRE, D. Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids. Amsterdam: **Elsevier**, 1991.

WHITE, J. B. **Yeast technology**, London: Chapman & Hall, 1954, 431p.

APÊNDICES

Apêndice A – Equações utilizadas para cálculos de água, malte, adjunto, e lúpulo para a produção dos mostos, de acordo com Daniels (2000).

- Cálculo de malte, adjunto e água primária

Para todos os mostos, considerou-se a proporção de água primária 1:3 kg de malte:kg de água, assumindo-se a eficiência do processo de 75%.

A quantidade de extrato para obtenção de um mosto com 12^ºP foi calculado através da seguinte equação:

$$\text{Ext} = (\text{Vm} \times \text{Cm})/\text{Efp} \quad (\text{A1})$$

Onde:

Ext = Quantidade de extrato necessário (kg)

Vm = volume de mosto a ser produzido (hL)

Cm = concentração de açúcares desejada para o mosto em kg/hL, transformando a concentração em ^ºP (m/m) em m/v com auxílio da tabela de Goldiner et al. (1951).

Efp = eficiência do processo

Considerando as proporções de malte:adjunto em cada receita e rendimento do malte pilsen de 75%, informado na ficha técnica, a quantidade de malte e adjunto foram calculadas através das equações a seguir:

$$\text{Malte (kg)} = (\text{Ext} \times \% \text{malte})/\text{Rm} \quad (\text{A2})$$

Onde:

Ext = Quantidade de extrato necessário (kg), calculado anteriormente

% malte = porcentagem de malte na formulação

Rm = rendimento do malte (%)

$$\text{Adjunto (L)} = (\text{Ext} \times \% \text{adjunto}) / \text{Ca} \quad (\text{A3})$$

Onde:

Ext = Quantidade de extrato necessário (kg), calculado anteriormente na equação (A1)

% adjunto = porcentagem de adjunto na formulação

Ca = concentração de sólidos solúveis do adjunto em kg/hL, transformando a concentração em °Brix (g/100g) em m/v com auxílio da tabela de Goldiner et al. (1951).

- Cálculos de lúpulo

Todas as cervejas foram feitas com 17 IBU, utilizando-se o cálculo estimado de IBU de acordo com DANIELS (2000), que considera a taxa de utilização do lúpulo em função do volume, concentração do mosto, bem como o tempo de fervura. Como todas as cervejas tiveram a mesma concentração, volume e tempos de adição do lúpulo, a conta foi igual para todas as cervejas. A Tabela 5 mostra a porcentagem de isomerização do alfa-ácido presente no lúpulo de acordo com o tempo de fervura.

Apêndice B – Modelo do TCLE aplicado aos consumidores antes do teste de aceitabilidade.

Termo De Consentimento Livre e Esclarecido

(Resolução Nº 466, de 12 de dezembro de 2012, segundo o Conselho Nacional de Saúde.)

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável.

Desde já fica garantido o sigilo das informações. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma.

TÍTULO DA PESQUISA: Produção de cerveja utilizando laranja como adjunto de malte.

Pesquisador Responsável: Eduardo Scandinari Manzolli

Contato: edsmanzolli@hotmail.com ou (16) 98126-6872

Pesquisador participante: João Batista de Almeida Silva

Telefones para contato: joabatista@usp.br ou (12) 3159 5044

Este trabalho tem por objetivo desenvolver e estudar um processo para a produção de cervejas de baixa fermentação utilizando laranja como adjunto de fabricação. Serão obtidas cervejas com 90, 75 e 55% de malte de cevada complementados com 10, 25 e 45% de laranja, respectivamente. A laranja será utilizado de duas formas: suco e concentrado. O concentrado é obtido em grandes indústrias brasileiras através de evaporação à vácuo do suco de laranja. O suco de laranja é utilizado na mostura (infusão de malte, suco e água submetidos a diferentes patamares de temperatura) e o mosto resultante é fervido por 60 minutos, onde se faz a adição do lúpulo, e também é feita também a adição de concentrado nas cervejas que utilizam essa forma de adjunto. Após fermentação as cervejas passam pela etapa de maturação e terminado este período são engarrafadas. Após análises físico-químicas as cervejas serão avaliadas sensorialmente e quanto à aceitação.

POPULAÇÃO PARTICIPANTE: Adultos maiores de 18 anos, estudantes e servidores da Escola de Engenharia de Lorena, de ambos os sexos, que **não tenham restrição ao consumo de álcool** e que manifestem seu consentimento em participar da pesquisa.

BENEFÍCIOS: Sua participação neste estudo é importante porque seus resultados fornecerão informações para o desenvolvimento de um novo tipo de cerveja, ainda inexistente no mercado de bebidas.

PRIVACIDADE: Os resultados obtidos neste trabalho, sejam eles favoráveis ou não, tornar-se-ão públicos através de publicações no meio acadêmico, porém, sem

identificação dos participantes. O pesquisador garante fornecer resposta a qualquer pergunta ou esclarecer qualquer dúvida que haja sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa.

DECLARO TER SIDO ESCLARECIDO SOBRE OS SEGUINTE PONTOS:

1. Que se possuo restrição ao consumo de álcool, não posso participar desta pesquisa;
2. Que como voluntário(a) desta pesquisa terei que participar do teste de aceitação das cervejas, provando-as e informar o quanto gostei ou desgostei do produto;
3. Que minha participação se limitará a uma única sessão de aproximadamente 15 min;
4. Que não terei nenhuma despesa para participar desta pesquisa;
5. Que li os itens Risco, Benefícios e Privacidade acima descritos.

Eu, _____,
RG _____, abaixo assinado, concordo em participar da pesquisa
“Produção de cerveja utilizando laranja como adjunto de malte” e declaro estar
ciente do compromisso assumido na minha colaboração com esta pesquisa.

Assinatura do voluntário: _____

Assinatura do Pesquisador: _____