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

RICARDO HENRIK KINOUTI COSTA

Produção de cerveja com baixo teor alcoólico

Lorena

2016

RICARDO HENRIK KINOUTI COSTA

Produção de cerveja com baixo teor alcoólico

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 Microbiologia Aplicada.

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

Edição reimpressa e corrigida

Lorena

Dezembro, 2016

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

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

Costa, Ricardo Henrik Kinouti
Produção de cerveja com baixo teor alcoólico /
Ricardo Henrik Kinouti Costa; orientador João
Batista de Almeida e Silva - ed. reimp., corr. -
Lorena, 2016.
84 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. Bagaço de malte. 3. Fermentação
limitada. 4. Baixo teor de álcool. I. Título. II.
Silva, João Batista de Almeida e, orient.

AGRADECIMENTOS

Inúmeras pessoas contribuíram neste trabalho, seja direta ou indiretamente. De qualquer forma, todas foram fundamentais para o seu desenvolvimento e para a minha formação. A todos agradeço imensamente. Em especial, agradeço:

Ao Prof. Dr. João Batista de Almeida e Silva, por me orientar com sabedoria e paciência, sendo um grande modelo de pesquisador.

Aos professores do Debiq, André, Bernadete, Inês, Graça, Rita e Walter, pelos ensinamentos e amizade.

Ao técnico da cervejaria, Waldir, por toda ajuda e por estar sempre disposto a correr atrás do necessário para que nossos experimentos pudessem ser realizados.

Aos amigos da cervejaria: Orerves, Raquel Aizemberg, Raquel Almeida, Diogo, Matheus, Léo, Hémerson, Yanet, Larissa, Thales, Bruno e Carol, por proporcionarem sempre conversas agradáveis e discussões interessantes.

Aos especiais Barbara, Milena e Eduardo, que são aqueles amigos que eu sei que vou levar para sempre.

Ao meu pai, por ser muito mais que um exemplo de perseverança, mas por ser um pai carinhoso e dedicado e por sempre ter se sacrificado pela família.

À minha mãe, por sempre ter me educado e aconselhado com muita sabedoria, paciência e amor, sempre estando ao meu lado nos momentos mais difíceis.

Aos meus irmãos, Rafael e Guilherme, pela amizade, carinho e companheirismo.

A minha namorada, Leticia, por sempre me dar força e se preocupar com o meu bem-estar. Obrigado por ser tão carinhosa, atenciosa e companheira. Você me faz sentir muito amado. Eu te amo.

Aos amigos da 45ª Turma de Biologia, mas principalmente àqueles que se mantiveram mais próximos a mim: Cris, Guilherme, Angelo, Nielson, João, Gabriel, Felipe, Vinícius, Luís, Jonathan e Ian. Amo muito todos vocês.

A todos os docentes e funcionários da Escola de Engenharia de Lorena, por serem ótimos profissionais que foram fundamentais na minha formação acadêmica.

À secretaria da pós-graduação e à CPG pela atenção e auxílio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida ao longo do Mestrado.

RESUMO

COSTA, R.H.K. **Produção de cerveja com baixo teor alcoólico**. 2016. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2016.

Atualmente observa-se um aumento significativo no consumo de cervejas com baixo teor alcoólico e cervejas sem álcool. Existe um crescente interesse por este tipo de produto tanto por parte das indústrias cervejeiras como por parte dos consumidores. Este aumento é principalmente devido a questões de saúde e a razões de segurança no trabalho e nas estradas. Além disso, há países onde o consumo de álcool é proibido por lei. Tendo em vista que o consumidor está em busca de novos produtos com características mais próximas possíveis de uma cerveja convencional, o presente trabalho visa analisar uma nova abordagem para a produção de cerveja *lager* com baixo teor alcoólico, reutilizando o bagaço de malte, um subproduto da indústria cervejeira, como substituinte de parte do malte. Foram obtidas cervejas com as seguintes proporções de bagaço/malte: 0:100, 25/75, 50/50 e 75/25. Nas cervejas com 50 e 75% de bagaço de malte, observou-se uma redução no tempo de fermentação quando comparadas com a cerveja puro malte. A atenuação real de fermentação das cervejas produzidas também foi menor devido a menor fermentabilidade dos mostos. O teor alcoólico das cervejas obtidas em escala de bancada apresentou valores entre 0,665 e 1,615 % (v/v), o que as caracterizam como cervejas de baixo teor alcoólico. A cerveja com 25% de bagaço recebeu as maiores notas na análise sensorial, tendo boa aceitação entre os provadores, e foi escolhida para a produção em escala piloto. O perfil de fermentação da cerveja produzida em escala piloto foi similar ao perfil de fermentação da cerveja produzida em escala de bancada. Também foi realizada uma análise sensorial, comparando a cerveja produzida em escala piloto com duas cervejas comerciais. A utilização do bagaço de malte como substituinte do malte na fabricação de cervejas com baixo teor alcoólico é uma estratégia viável, produzindo uma bebida com aceitação sensorial semelhante ao de uma cerveja de baixo teor alcoólico comercial.

Palavras-chave: Cerveja, Bagaço de malte, Baixo teor de álcool, Fermentação limitada.

ABSTRACT

COSTA, R.H.K. **Low-alcohol beer production**. 2016. 84 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2016.

Nowadays there has been a significant increase in the consumption of beer with low alcohol content and non-alcoholic beers. There is a growing interest on this type of product by both brewers industries and consumers. This increase is mainly due to health issues and safety reasons at work and on the roads. In addition, there are countries where the consumption of alcohol is prohibited by law. Given that the consumer is looking for new products with characteristics as similar as possible of conventional beer, this study aims to analyze a new approach for the production of lager beer with low alcohol content, by reusing brewer's spent grain, a by-product of brewing industry, as a substitute of part of the malt. Beers were obtained with the following proportions of bagasse/malt: 0/100, 25/75, 50/50 and 75/25. In beers with 50 and 75% of bagasse, it was observed a reduction in the fermentation time compared with all-malt beer. The Real Attenuation Fermentation of Beer produced was also lower due to lower fermentability of wort. The beers' alcohol content obtained in laboratory scale showed values between 0.665 and 1.615% (v/v), which characterize them as low-alcohol beers. Beer with 25% of bagasse received the highest scores in sensory analysis, having a good acceptance among the tasters, therefore it was chosen for the production on a pilot scale. The beer's fermentation profile produced on pilot scale was similar to the beer's fermentation profile produced in laboratory scale. Sensory analysis was also performed, comparing the beer produced in pilot scale with two commercial beers. The use of brewer's spent grain as a substitute in the manufacture of beers with low alcohol content is a viable strategy, producing a beverage with sensory acceptance similar to a commercial low-alcohol beer.

Keywords: Beer, Brewer's spent grain, Low alcohol content, Limited fermentation.

Lista de Figuras

Figura 1-	Evolução de vendas de cerveja sem álcool na Espanha.....	18
Figura 2-	Estruturas do grão de cevada.....	23
Figura 3-	Representação esquemática do processo de obtenção do bagaço de malte.....	24
Figura 4-	Esquema simplificado do processo cervejeiro convencional.....	30
Figura 5-	Esquema dos métodos mais comuns de produção de cerveja sem álcool.....	34
Figura 6-	Processo de evaporação por camada fina.....	35
Figura 7-	Programação de tempo e temperatura no processo de mosturação.....	47
Figura 8-	Ficha utilizada nos testes de comparação e aceitação da análise sensorial.....	51
Figura 9-	Perfil de Fermentação da cerveja puro malte. (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.....	55
Figura 10-	Perfil de Fermentação da cerveja com 25% de bagaço de malte. (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.....	56
Figura 11-	Perfil de Fermentação da cerveja com 50% de bagaço de malte. (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.....	57
Figura 12-	Perfil de Fermentação da cerveja com 75% de bagaço de malte. (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.....	57
Figura 13-	Concentração total de células e concentração das células viáveis em suspensão durante a fermentação do mosto puro malte (A) e dos mostos com 25% de bagaço (B), 50% de bagaço (C) e 75% de bagaço (D).....	60
Figura 14-	Caracterização dos provadores em relação ao sexo (A) e faixa etária (B).....	61
Figura 15-	Aparência das cervejas produzidas em escala de bancada. 1- Cerveja puro malte; 2-Cerveja com 25% de bagaço; 3-Cerveja com 50% de bagaço; 4-Cerveja com 75% de bagaço.....	63

Figura 16-	Perfil de Fermentação da cerveja com 25% de bagaço de malte, produzido em escala piloto (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.....	65
Figura 17-	Concentração total de células e concentração das células viáveis em suspensão durante a fermentação do mosto com 25% de bagaço em escala piloto.....	67
Figura 18-	Caracterização dos provadores em relação ao sexo (A) e faixa etária (B).....	68

Lista de Tabelas

Tabela 1-	Análise química de águas cervejeiras famosas (mg/L).....	21
Tabela 2-	Composição físico-química do bagaço de malte.....	25
Tabela 3-	Temperaturas de ativação das enzimas presentes no malte de cevada.....	31
Tabela 4-	Características físico-químicas da água do poço artesiano da EEL.....	44
Tabela 5-	Características dos mostos produzidos.....	53
Tabela 6-	Análise físico-química da cerveja puro malte e das cervejas com diferentes proporções de bagaço de malte.....	58
Tabela 7-	Notas dos atributos sensoriais e intenção de compra da análise sensorial das diferentes cervejas obtidas.....	62
Tabela 8-	Característica do mosto produzido em escala piloto.....	64
Tabela 9-	Comparação dos parâmetros de fermentação das cervejas com 25% de bagaço obtidas em escala de bancada e escala piloto...	66
Tabela 10-	Notas dos atributos sensoriais e intenção de compra da análise sensorial da cerveja produzida em escala piloto e das cervejas comerciais.....	68

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 HISTÓRICO DA PRODUÇÃO DE CERVEJA SEM ÁLCOOL E CERVEJA COM BAIXO TEOR ALCOÓLICO	17
2.2 LEGISLAÇÃO	19
2.3 CERVEJA E SAÚDE	19
2.4 MATÉRIAS-PRIMAS	20
2.4.1 Água	21
2.4.2 Malte de cevada	22
2.4.3 Bagaço de Malte	23
2.4.4 Lúpulo.....	25
2.4.5 Levedura.....	27
2.5 PROCESSOS DE OBTENÇÃO DE CERVEJAS.....	29
2.6 PROCESSOS DE OBTENÇÃO DE CERVEJAS SEM ÁLCOOL.....	33
2.6.1 Produção de cerveja sem álcool por métodos de remoção do etanol	34
2.6.1.1 Processos térmicos.....	34
2.6.1.1.1 Evaporação por camada fina	35
2.6.1.1.2 Destilação a vácuo	36
2.6.1.2 Membranas.....	36
2.6.1.2.1 Diálise.....	36
2.6.1.2.2 Osmose reversa	37
2.6.2 Produção de cerveja sem álcool por métodos de restrição na formação do etanol.....	38
2.6.2.1 Uso de leveduras especiais	38

2.6.2.2 Alterações no processo de fermentação.....	39
2.6.2.3 Alterações na composição do mosto cervejeiro.....	40
2.7 ANÁLISE SENSORIAL	41
3 OBJETIVOS	43
3.1 OBJETIVO GERAL	43
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	43
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1 MATERIAL	44
4.1.1 Água	44
4.1.2 Malte de cevada	45
4.1.3 Lúpulo.....	45
4.1.4 Bagaço de Malte	45
4.1.5 Levedura	45
4.2 ETAPAS DE PRODUÇÃO DO MOSTO CERVEJEIRO	45
4.2.1 Obtenção do Bagaço de Malte	46
4.2.2 Moagem do malte.....	46
4.2.3 Mosturação.....	46
4.2.4 Filtração.....	47
4.2.5 Fervura	47
4.2.6 Fermentação e Maturação	48
4.2.7 Finalização da bebida.....	48

4.3 ACOMPANHAMENTO ANALÍTICO DOS EXPERIMENTOS	49
4.3.1 Mosturação	49
4.3.2 Acompanhamento da fermentação	49
4.3.2.1 Análises físico-químicas	49
4.3.2.2 Concentração celular	49
4.4 ANÁLISE SENSORIAL.....	50
4.5 PRODUÇÃO EM ESCALA PILOTO	51
4.6 METODOLOGIA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 PRODUÇÃO DOS MOSTOS.....	53
5.2 PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO	53
5.3 ANÁLISE SENSORIAL.....	60
5.4 PRODUÇÃO EM ESCALA PILOTO	64
5.4.1 Produção do mosto.....	64
5.4.2 Parâmetros de fermentação	64
5.4.3 Análise sensorial	67
6 CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS	72
APÊNDICE A	83

1 INTRODUÇÃO

Cerveja de baixo teor alcoólico representa uma pequena parte do percentual da indústria de fabricação de cerveja, contudo recentemente houve um crescimento significativo deste produto (FRANCESCO et al., 2014). A redução do álcool em bebidas alcoólicas, especialmente em cervejas, é de grande interesse comercial (NEVOIGT, 2002). O aumento atual da demanda por cervejas com baixo teor alcoólico e cerveja sem álcool é atribuído a diversos fatores, como alimentação, saúde, segurança, ou leis mais estritas em relação a beber e dirigir (NEVOIGT, 2002; FRANCESCO et al., 2014).

Há também países onde o consumo de álcool é proibido por questões religiosas (BRÁNYIK et al., 2012). Cervejas sem álcool e com baixo teor alcoólico também são recomendadas para alguns grupos específicos de pessoas, como mulheres grávidas, esportistas profissionais e pessoas com patologias hepáticas e cardiovasculares (BAMFORTH, 2002).

No Brasil, de acordo com o Decreto n. 6.871 de 4 de junho de 2009, da Presidência da República, bebidas classificadas como não alcoólicas apresentam teor de álcool até 0,5% (v/v) (BRASIL, 2009). De um modo geral, cervejas com baixo teor de álcool apresentam um conteúdo de álcool inferior a 2,5% (v/v) (SOHRABVANDI et al., 2010)

Existem duas principais estratégias para redução do álcool em cervejas (BRÁNYIK et al., 2012). Os métodos físicos que consistem em remover o álcool após a etapa de fermentação e os métodos biológicos que estão relacionados à restrição da formação do álcool. Uma estratégia para a produção de cervejas com baixo teor alcoólico é reduzir a concentração de açúcares fermentáveis do mosto, assim uma menor quantidade de álcool é formada durante a fermentação. A adição do bagaço de malte junto com o malte na etapa de mosturação representa uma abordagem viável para reduzir essa concentração, e consequentemente diminuir a concentração de álcool da cerveja.

O bagaço de malte é o principal subproduto gerado no processo de fabricação de cerveja e apresenta alto valor biotecnológico. Esse subproduto contém alto teor de umidade e baixa concentração de açúcares fermentáveis. Portanto, a utilização do bagaço de malte no processo de mosturação pode

produzir um mosto com menor concentração de extrato fermentável. Deste modo, a reutilização desse resíduo no processo de fabricação de cerveja pode ser atraente do ponto de vista econômico e tecnológico.

Nesse contexto, o presente trabalho visa analisar novos procedimentos de produção de cerveja com baixo teor alcoólico, utilizando o bagaço de malte como substituinte de parte do malte, uma vez que este tipo de cerveja representa um produto diferenciado que tem ganhado importância no mercado. Além disso, viabiliza outro destino para este subproduto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico da produção de cerveja sem álcool e cerveja com baixo teor alcoólico

De acordo com relatos, as primeiras cervejas sem álcool foram elaboradas pelos egípcios, cerca de 2000 a.C. No templo dedicado a deusa Athor, recipientes contendo cerveja eram posicionados ao pé da estátua e aquecidos, deste modo o vapor da cerveja (álcool) era oferecido à divindade. O líquido remanescente, cerveja sem álcool, era vendido entre os seguidores para levantar fundos destinados a conservação do templo (SILVA et al., 2010).

Apesar da origem da bebida ter ocorrido no Egito Antigo, os produtos associados a este tipo de mercado podem ser considerados relativamente novos (DEL OLMO et al., 2014). No século passado, a produção de cerveja com baixo teor alcoólico teve diferentes razões históricas. Por exemplo, a escassez de matérias-primas durante as guerras mundiais foi o principal motivo para a produção de cervejas com baixo extrato inicial, logo com baixa concentração de álcool (BRÁNYIK et al., 2012). Em contrapartida, a proibição de venda, consumo e fabricação de bebidas alcoólicas, entre os anos de 1919 e 1933, foi responsável pelo aumento da produção de cervejas com baixo conteúdo de álcool nos Estados Unidos (MEUSSDOERFFER, 2009).

No final da década de 70, a produção de cerveja sem álcool voltou a ter importância econômica, visto que neste período devido a legislação iniciou-se as restrições relacionadas ao consumo de álcool e a condução de veículos motorizados (SILVA et al., 2010).

A primeira cerveja com baixo teor de álcool brasileira (Kronenbier) foi lançada e produzida em 1991, pela Companhia Antarctica Paulista (SILVA et al., 2010). No entanto, apenas em 2006 ocorreu o lançamento da primeira cerveja brasileira, e também da América latina, totalmente sem álcool (Liber), produzida pela Companhia de Bebidas das Américas- AmBev.

Atualmente observa-se um aumento significativo no consumo de cervejas com baixo teor alcoólico e cervejas sem álcool (FRANCESCO et al., 2015). O

interesse por este tipo de produto está relacionado com a alimentação, saúde, novas leis mais estritas em relação a beber e dirigir e por razões religiosas (CATARINO et al., 2011; FRANCESCO et al., 2014). De acordo com Strejc et al. (2013), cerveja sem álcool representa também uma alternativa para grupos específicos de pessoas como mulheres grávidas ou que estão no período de amamentação, pessoas que estão sob tratamento médico ou durante o expediente de trabalho.

Nos últimos dez anos, a média de vendas na Europa subiu em 50%. A Espanha é o país que mais consome e produz cerveja com baixo teor de álcool da União Europeia (BENAVIDES et al., 2013). Entre os anos de 2003 e 2007, houve um crescimento de aproximadamente 61% no mercado espanhol de cerveja sem álcool (Figura 1) (SILVA et al., 2010).

Figura 1- Evolução de vendas de cerveja sem álcool na Espanha.

Fonte: (SILVA et al., 2010).

Segundo a Associação Brasileira da Indústria da Cerveja (CERVBRASIL, 2015), na Espanha e nos Estados Unidos esse segmento pode representar até 18% do mercado total de cervejas.

No Brasil, o consumo de cerveja sem álcool representa apenas 1% do mercado, contudo o volume de vendas desse produto cresceu 5% entre os anos de 2009 e 2014 (CERVBRASIL, 2015). O mercado brasileiro de cervejas sem

álcool está em crescimento, impulsionado principalmente pelo rigor da Lei seca e a conscientização de uma vida mais saudável.

2.2 Legislação

A definição legal para cerveja com baixo teor alcoólico e cerveja sem álcool varia de um país para outro (FRANCESCO et al., 2014). Por exemplo, na maioria dos países da união europeia as cervejas sem álcool apresentam um conteúdo de álcool inferior a 0,5% (v/v), enquanto as cervejas com baixo teor alcoólico apresentam um conteúdo de álcool inferior a 1,2% (v/v) (BENAVIDES et al., 2013). Já nos Estados Unidos as cervejas sem álcool são totalmente isentas de álcool (MONTANARI et al., 2009). Nos países onde a proibição religiosa é imposta (como os países islâmicos), o teor de álcool na cerveja não pode exceder 0,05% em volume (DEL OLMO et al., 2014).

No Brasil, segundo o Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009, é considerada cerveja sem álcool aquela que o conteúdo em álcool é menor ou igual a meio por cento em volume (BRASIL, 2009). Segundo Sohrabvandi et al. (2010), a cerveja pode ser considerada de baixo teor alcoólico quando possui um conteúdo de álcool inferior a 2,5% (v/v).

2.3 Cerveja e saúde

O consumo de cerveja apresenta um interesse especial devido às suas características organolépticas e aos benefícios relacionados à saúde, e também devido ao seu baixo custo, em comparação com outros tipos de bebidas alcoólicas ocidentais e europeias, como o vinho (SOHRABVANDI et al., 2012; BLANCO et al., 2014).

O consumo moderado de cerveja mostrou-se tão eficaz quanto o vinho na diminuição de riscos de doenças coronárias, ataques cardíacos e diabetes (MUKAMAI; RIMM, 2008; GHISELLI et al., 2000). De acordo com Innes (1998), o

menor custo e a eficácia estão entre as razões para a substituição do vinho tinto pela cerveja como bebida cardioprotetora.

Estudos indicam que a presença de proteínas, vitaminas do complexo B, certos minerais, compostos fenólicos (antioxidantes), etanol, fibras dietéticas, e mesmo compostos probióticos na cerveja estão associadas as propriedades funcionais e medicinais da bebida (SOHRABVANDI et al., 2010; BAMFORTH, 2009). O lúpulo presente na cerveja é considerado uma erva com propriedades medicinais, utilizado como antibiótico e anti-inflamatório (KONDO, 2003).

Embora o consumo excessivo de álcool possa trazer prejuízos a saúde dos consumidores, há fortes evidências de que o consumo moderado de cerveja não só apresenta uma melhora na qualidade de vida quando comparada ao consumo excessivo, mas também quando comparada a abstenção de álcool (SOHRABVANDI et al., 2012).

Cervejas sem álcool e cervejas com baixo teor alcoólico exibem vantagens adicionais para a saúde sobre as cervejas convencionais. A baixa concentração de etanol nesse tipo de bebida está associada ao menor conteúdo de calorias, geralmente as cervejas sem álcool apresentam metade das calorias das cervejas convencionais (SILVA et al., 2010).

Outro parâmetro a ser analisado é a propriedade isotônica das cervejas com baixo teor de álcool. Este tipo de bebida apresenta concentração de minerais igual ou inferior às concentrações encontradas nos fluidos corporais (SILVA et al., 2010). Deste modo, as cervejas com baixa concentração de álcool são recomendadas aos praticantes de atividades físicas, uma vez que bebidas isotônicas evitam a desidratação (FRANCESCO et al., 2014).

As cervejas com baixo teor de álcool exibem os mesmos benefícios associados a saúde das cervejas convencionais. Entretanto, apresentam menos calorias e o consumo desse tipo de produto pode evitar os problemas relacionados com a ingestão excessiva de álcool (SOHRABVANDI et al., 2012). Deste modo, as cervejas com baixo teor de álcool representam uma ótima alternativa comparada às cervejas convencionais.

2.4 Matérias-primas

A cerveja sem álcool é fabricada com os mesmos ingredientes da cerveja tradicional: água, malte de cevada, lúpulo e levedura.

2.4.1 Água

A água é o principal elemento da cerveja e corresponde a aproximadamente 92% do seu peso (EUMANN, 2006).

O conteúdo mineral, como cálcio, cloreto e sulfato, presente na água pode alterar o sabor, a cor, o aroma e a aparência da cerveja. Historicamente as características dos diferentes estilos de cerveja foram influenciadas pela composição da água usada na sua produção. Os dados da Tabela 1 mostram como alguns centros cervejeiros tornaram-se famosos por determinados estilos de cerveja, em virtude da composição da água (TAYLOR, 2006). Atualmente, com a evolução tecnológica do tratamento de água, é possível adequar a composição de qualquer água às características desejadas (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010).

Tabela 1- Análise química de águas cervejeiras famosas (mg/L).

Parâmetros	Pilsen	Munich	Londres	Burton
Ca ²⁺	7	80	90	268
Mg ²⁺	1	19	4	62
Na ⁺	3	1	24	30
HCO ₃ ⁻	9	164	123	141
SO ₄ ²⁻	6	5	58	638
NO ₃ ⁻	0	3	3	31
Cl ⁻	5	1	18	36

Fonte: adaptado de Taylor (2006).

O conteúdo de sais de cálcio e magnésio determina a dureza da água. As águas com elevadas concentrações de sais minerais apresentam maior dureza e são indicadas para produção de cervejas mais escuras e fortes, enquanto as

águas com menores concentrações de sais são indicadas para a produção de cervejas mais claras e leves (TAYLOR, 2006; DIMAS, 2010).

Segundo Almeida e Silva (2005), uma boa água cervejeira deve apresentar os seguintes requisitos:

- Ser potável, transparente, incolor e inodora;
- Ausência de Cloro;
- Apresentar alcalinidade máxima de 50 ppm;
- Possuir aproximadamente 50 ppm de cálcio.

No processo de produção de cerveja, a água é utilizada na fabricação do mosto e na padronização do teor alcoólico; na esterilização e limpeza dos equipamentos; nas etapas de resfriamento e pasteurização; e na limpeza em geral da cervejaria (TAYLOR, 2006).

2.4.2 Malte de cevada

A cevada, uma gramínea da espécie *Hordeum vulgare*, é o cereal mais utilizado na fabricação de cerveja. Os grãos de cevada podem estar alinhados na espiga em duas ou seis fileiras. A cevada de duas fileiras apresenta maior teor de amido (extrato fermentável), menor riqueza proteica e menos casca do que a cevada de seis fileiras. Por essa razão, a cevada de duas fileiras é considerada melhor para os fins cervejeiros (PALMER, 2006; GUPTA et al., 2010).

O grão é constituído basicamente por uma casca externa, endosperma amiláceo e embrião (Figura 2). A casca é composta por material celulósico, proteínas, resina e taninos em menor quantidade, e proporciona proteção externa ao grão. A casca apresenta importância tecnológica, visto que é o elemento filtrante na etapa de filtração do mosto (PALMER, 2006).

O endosperma amiláceo é um tecido de reserva que acumula amido no interior de suas células. O amido é composto por dois tipos de moléculas, amilose e amilopectina, que são hidrolisadas durante a etapa de mosturação, compondo o extrato fermentável do mosto (VENTURINI, 2001).

Figura 2- Estruturas do grão de cevada.

Fonte: PALMER (2006) - adaptado e traduzido pelo autor.

O malte é o produto obtido pela germinação controlada das sementes de qualquer cereal (cevada, trigo, milho e arroz) para emprego industrial. Apesar de diversos cereais poderem ser maltados, a cevada é o mais adequado para a fabricação de cerveja devido à sua composição química e suas características físicas (CEPPI; BRENNAN, 2010). O objetivo principal da maltagem é elevar o conteúdo enzimático dos grãos de cevada através da síntese de enzimas, o que aumenta o seu poder diastásico (PALMER, 2006).

O processo de maltagem é constituído por três etapas: maceração, germinação e secagem ou torrefação (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010). De acordo com Morado (2009), esta última etapa determina a cor, o aroma e algumas outras características do produto final.

2.4.3 Bagaço de Malte

O bagaço de malte é o principal subproduto gerado no processo de fabricação de cerveja (CORDEIRO et al., 2012). Na etapa de filtração, o mosto é separado do resíduo sólido (Figura 3).

Figura 3- Representação esquemática do processo de obtenção do bagaço de malte.

Fonte: Mussatto et al. (2006) - adaptado e traduzido pelo autor.

Esse subproduto é constituído basicamente pelas cascas do malte, açúcares, proteínas e fibras (DRAGONE et al., 2007). Além disso, o bagaço apresenta alta umidade, como foi demonstrado por Robertson et al. (2010). Em seu trabalho, Robertson caracterizou o teor de umidade do bagaço de malte de 10 cervejarias comerciais, e os valores variaram de 75 a 80%. Já em relação ao teor de proteína solúvel, os baixos valores encontrados no bagaço podem ser explicados pelo processo de geração deste resíduo, onde toda a fração solúvel do grão de malte é retirado durante o processo de lavagem do mesmo. Os aminoácidos predominantes no bagaço de malte são leucina, valina, alanina, serina, glicina, tirosina, lisina e prolina (MATHIAS et al., 2015). No entanto, sua composição química depende da variedade da cevada, do tempo de colheita e das condições da mosturação. Ainda, a qualidade e o tipo de adjuntos utilizados na fabricação de cerveja podem afetar a sua composição química (FORSSELL et al., 2008). A composição do bagaço de malte encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2- Composição físico-química do bagaço de malte.

Parâmetros	Valores obtidos
Umidade (g.100g ⁻¹)	75,45± 0,48
Cinzas (g.100g ⁻¹)	1,29± 0,02
Carboidratos (g.100g ⁻¹)	15,46± 0,03
Proteínas Totais (g.100g ⁻¹)	5,37± 0,03
Gorduras Totais (g.100g ⁻¹)	2,43± 0,05
Fibra Bruta (g.100g ⁻¹)	3,98± 0,04
Energia (Kcal.100g ⁻¹)	105,19± 0,03

Fonte: Cordeiro et al., 2012.

O Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo com uma produção anual média de 12,6 bilhões de litros (MARDEGAN et al., 2013). A cada 100 litros de cerveja produzida são gerados aproximadamente 20 kg de bagaço de malte (CORDEIRO et al., 2012). Segundo Cordeiro et al. (2013), este subproduto encontra-se disponível durante todo ano, em grandes quantidades e a um baixo custo.

O bagaço de malte é uma matéria-prima interessante para aplicações alimentares e não alimentares (FORSSELL et al., 2008). Tradicionalmente, esse subproduto é destinado para ração animal, porém há estudos, em escala de laboratório, reutilizando o bagaço de malte como suporte de imobilização de leveduras em processos de fermentação contínua (DRAGONE et al., 2007; BRÁNYIK et al., 2002). Segundo Forssell et al. (2008), há também diversos estudos sobre a utilização do bagaço de malte em produtos de panificação.

De acordo com Mussatto et al. (2006), a reutilização do bagaço de malte no processo de fabricação de cerveja pode ser atrativa do ponto de vista econômico da cervejaria.

2.4.4 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) pertence à família Canabinaceae e é nativa de regiões temperadas da América do Norte, Europa e Ásia (TSCHOPE, 2001). Segundo Almaguer et al. (2014), cerca de 97% do cultivo de lúpulo é destinado para fins cervejeiros.

A planta é uma trepadeira perene e dioica, isto é, apresenta flores masculinas e femininas em indivíduos separados (TSCHOPE, 2001). No entanto, apenas a inflorescência feminina apresenta interesse comercial, uma vez que esta possui glândulas de lupulinas capazes de sintetizar e acumular resinas e óleos essenciais, responsáveis pelo amargor e aroma característico do lúpulo nas cervejas (ROBERTS; WILSON, 2006; ALMAGUER et al., 2014).

As resinas são compostas principalmente por α -ácidos (humulonas) e β -ácidos (lupulonas). O α -ácido é a principal fonte de amargor da cerveja. Após a adição do lúpulo na etapa de fervura do mosto, os α -ácidos, insolúveis em água, são extraídos e isomerizados termicamente em iso- α -ácidos, substâncias mais amargas e solúveis em água (ALMAGUER et al., 2014). Quanto maior o tempo que o lúpulo for submetido à fervura, maior o grau de isomerização e assim, mais amarga a cerveja será. Por outro lado, os β -ácidos possuem baixa solubilidade em água e contribuem em menor intensidade para o amargor, entretanto possuem ação bactericida sobre bactérias gram-positivas, agindo no transporte de metabólitos na membrana celular e alterando o pH intracelular (SILVA; FARIA, 2008).

Os óleos essenciais são compostos por uma mistura de várias centenas de componentes, entre eles estão: hidrocarbonetos, ésteres, aldeídos, cetonas, ácidos e álcoois (SHARPE; LAWS, 1981). De acordo com TSCHOPE (2001), os óleos essenciais influenciam tanto no sabor como no aroma da cerveja.

As concentrações de resinas e óleos essenciais dependem da variedade do lúpulo, tempo de colheita, secagem e armazenamento, podendo contribuir com mais ou menos amargor e aroma (ALMAGUER et al., 2014). As diferentes variedades de lúpulo apresentam um sabor e perfil de aroma próprio e podem ser classificados em dois tipos: lúpulos de amargor e lúpulos de aroma. Os primeiros são ricos em α -ácido, enquanto os últimos apresentam baixa concentração de α -ácido e maior teor de óleos essenciais (PALMER, 2006).

O amargor da cerveja é tradicionalmente avaliado em Unidades Internacionais de Amargor (International Bitterness Unit – IBU). O IBU é a medida

da concentração de iso- α -ácidos na cerveja, sendo que 1 IBU corresponde a 1 mg de iso- α -ácido por litro de cerveja (DANIELS, 2000).

2.4.5 Levedura

As leveduras são microrganismos eucariontes, unicelulares, desprovidos de clorofila e que pertencem ao Reino Fungi (SHWAN; CASTRO, 2001). Segundo Sicardi e Legras (2011), foram registradas aproximadamente 600 espécies de leveduras amplamente distribuídas em diferentes nichos ecológicos e áreas geográficas. Dentre elas, um pequeno grupo de leveduras, em especial a *Saccharomyces cerevisiae*, têm sido utilizadas na produção de alimentos e bebidas, pois apresentam uma característica única não encontrada em outros gêneros de levedura: a habilidade de converter açúcares em etanol e CO₂ na ausência de oxigênio (SICARDI; LEGRAS, 2011).

A *Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura anaeróbia facultativa que pode usar tanto a via respiratória quanto fermentativa. Na presença de oxigênio, a levedura tende a respirar, metabolizando a glicose pela via glicolítica e, posteriormente, oxidando o ácido pirúvico resultante pela via do ácido cítrico, gerando como subprodutos, CO₂, água e energia suficiente para que a célula sobreviva e se divida. Já na ausência de oxigênio, a célula metaboliza a glicose pela via glicolítica e oxida os produtos pela via fermentativa alcoólica, gerando etanol, CO₂ e energia suficiente para sua sobrevivência (AIZEMBERG, 2015; SANTOS, 2011).

Na década de 80, o trabalho de Emil C. Hansen do laboratório da cervejaria Carlsberg, na Dinamarca, foi o primeiro a classificar a *S. cerevisiae* como uma levedura de alta fermentação (*ale*) e *S. carlsbergensis* como de baixa fermentação (*lager*). Uma diferença tradicional entre as linhagens de leveduras *ale* e *lager* é que as linhagens *ale* não são capazes de metabolizar o açúcar melibiose. Esta capacidade depende da presença da enzima α -galactosidase que hidrolisa melibiose em galactose e glicose (CARVALHO et al., 2006; RUSSEL, 2006).

Posteriormente, em meados da década de 90, pesquisas taxonômicas reposicionaram a *S.uvarum* (antiga *S. carlsbergensis*) como sendo da espécie *S. cerevisiae* (RUSSEL, 2006). Deste modo, as leveduras utilizadas na produção de cervejas, tanto *ale* como *lager*, são linhagens de *S. cerevisiae* (CARVALHO et al., 2006).

A levedura utiliza uma ampla variedade de nutrientes para manter o crescimento e gerar energia, entre eles, os açúcares e aminoácidos apresentam maior importância para o desempenho da fermentação e, conseqüentemente, para a qualidade da cerveja (COGHE et al., 2005)

Linhagens de *S. cerevisiae* têm a capacidade de fermentar uma grande variedade de açúcares, por exemplo, sacarose, glicose, frutose, galactose, manose, maltose e maltotriose, nesta sequência de prioridade, embora algum grau de sobreposição ocorra (SILVA, 2005). O passo inicial na utilização de qualquer açúcar pela levedura, é o da sua passagem intacta através da membrana celular ou da sua hidrólise do lado de fora da membrana, seguido por sua entrada na célula (STEWART et al., 2013).

A maltose e maltotriose, principais açúcares da composição do mosto, são exemplos de açúcares que passam intactos através da membrana celular da levedura. A levedura possui mecanismos independentes de absorção para transportar maltose e maltotriose através da membrana plasmática. Uma vez dentro da célula, ambos os açúcares são hidrolisados em glicose (STEWART et al., 2013). Já sacarose é hidrolisada por enzimas extracelulares e os produtos da hidrólise são absorvidos (GONÇALVES et al., 2000).

De acordo com Pugh et al. (1997), é bem documentado que o nitrogênio é um elemento essencial para o crescimento e metabolismo da levedura. No entanto, nem todos os materiais nitrogenados do mosto podem ser utilizados pela levedura para a realização de suas atividades metabólicas. Os aminoácidos livres (FAN) são os compostos nitrogenados disponíveis para consumo. FAN é a soma dos aminoácidos individuais do mosto, íons de amônio e de pequenos peptídeos, e são usados pela levedura para realizar as suas atividades metabólicas, tais como a síntese de novos aminoácidos, enzimas e proteínas estruturais (STEWART et al., 2013).

Por ser um meio complexo, o mosto pode funcionar tanto como um meio de crescimento para o desenvolvimento de novas células, como um meio de

fermentação, onde a levedura converte os açúcares fermentescíveis em etanol, CO₂ e outros produtos metabólicos, como álcoois superiores, ésteres e aldeídos, que influenciam o sabor e aroma da cerveja (STEWART et al., 2013; BRAGA, 2006). Além disso, a concentração desses produtos varia de acordo com o tipo de levedura utilizada, o que consequentemente, influencia nas características da cerveja (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010).

2.5 Processos de obtenção de cervejas

O processo de produção de cerveja é composto pelas seguintes etapas: moagem, mosturação, filtração ou clarificação do mosto, fervura, resfriamento do mosto, fermentação, maturação, filtração e envase, que serão abordadas com mais detalhes a seguir (Figura 4).

Figura 4- Esquema simplificado do processo cervejeiro convencional.

Fonte: modificado (LINKO et al., 1998).

A primeira etapa consiste em quebrar os grãos de malte e de outros cereais com a finalidade de expor e triturar o endosperma amiláceo, e assim facilitar a ação das enzimas na etapa seguinte (TSCHOPE, 2001; MORADO, 2009).

Na mosturação, a água primária é adicionada ao malte moído e esta mistura é submetida a temperaturas controladas para ação das diferentes enzimas do malte (Tabela 3) (TSCHOPE, 2001; MORADO, 2009). Segundo

Brandam et al. (2003), as principais reações enzimáticas que ocorrem durante a mosturação são a hidrólise do amido em carboidratos fermentáveis, a hidrólise de proteínas em aminoácidos livres e a degradação das cadeias de β -glucano.

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

Enzima	Temperatura ótima na mosturação (°C)	pH ótimo na mosturação	Substrato	Produto
Hemicelulase	40-45	4.5 - 4.7	Hemicelulose	Glucanos
Endopeptidases	45-50	3.9 - 5.5	Proteínas	Peptídeos e aminoácidos livres
Exopeptidases	40-50	5.2 - 8.2	Proteínas	Aminoácidos livres
α -amilase	65-75	5.6 - 5.8	α -glucanos de baixo e alto peso molecular	Dextrinas
β -amilase	60-65	5.4 - 5.6	α -glucanos	Maltose
Dextrinase limite	55-65	5.1	Dextrina limite	Dextrina

Fonte: Adaptado (TSCHOPE, 2001).

Para abranger o perfil de temperatura ótima de cada enzima, a mosturação é geralmente operada com sucessivos descansos entre os aumentos de temperatura: primeiro descanso a 50°C para a hidrólise de proteínas e de β -glucanos, segundo descanso a 65°C para a sacarificação, e aumento final da temperatura a 76°C com o objetivo de assegurar a dissolução final de pequenos grãos de amido (BRANDAM et al., 2003). No entanto, o perfil da mosturação varia de acordo com o estilo de cerveja a ser produzido (TSCHOPE, 2001; MORADO, 2009).

Após a mosturação, o mosto primário é separado da fração insolúvel do malte (bagaço de malte) através da filtração. O principal objetivo da filtração é obter um mosto clarificado e extrair açúcares fermentescíveis dos materiais sólidos residuais através da lavagem do bagaço com a água secundária (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010). Nessa etapa, a temperatura da água não

deve exceder 80°C para não extrair polifenóis em excesso, o que prejudica o sabor da cerveja (MORADO, 2009).

Na etapa seguinte, o mosto é submetido à fervura vigorosa por pelo menos uma hora (KEUKELEIRE, 2000). Durante a fervura ocorre a inativação das enzimas, transferência dos compostos amargos e aromáticos do lúpulo, coagulação de proteínas, esterilização do mosto e evaporação da água e de outros compostos voláteis indesejáveis (HERRMANN et al., 2010). Ao final dessa etapa, o *trub*, resíduo composto por materiais insolúveis do lúpulo e proteínas coaguladas durante a fervura, é separado do mosto (LINKO et al., 1998).

O mosto clarificado é então resfriado até a temperatura de fermentação. O resfriamento deve ser realizado de forma rápida para evitar contaminação e formação de aromas indesejáveis. Posteriormente, o mosto é aerado com a finalidade de prover oxigênio para a levedura nos estágios iniciais da fermentação (TSCHOPE, 2001; BRIGGS et al., 2004).

A etapa de fermentação inicia-se com a inoculação da levedura desejada no mosto resfriado. Tradicionalmente, as cervejas *ale*, são produzidas com leveduras de alta fermentação, inoculadas em um mosto resfriado a 16°C e fermentadas na faixa de 15-20°C por um período de 2 a 3 dias. Já para as cervejas *lager*, são utilizadas leveduras de baixa fermentação, inoculadas em um mosto resfriado de 7-10°C e fermentadas na faixa de 10-15°C por um período mais longo (BRIGGS et al., 2004).

Segundo Carvalho et al. (2007), a fermentação do mosto cervejeiro pode ser influenciada por sua composição, nível de oxigênio inicial, concentração e viabilidade celular, temperatura de fermentação e concentração de etanol.

Durante essa etapa, quase todo extrato fermentescível é convertido em etanol, CO₂ e outros subprodutos (diacetil, álcoois superiores, aldeídos, ésteres e ácidos carboxílicos), que influenciam no sabor da cerveja (LINKO et al., 1998).

Ao fim da fermentação ocorre a etapa de maturação, que tem por objetivo: iniciar a clarificação da cerveja, saturar a cerveja com gás carbônico e melhorar o aroma e sabor da bebida (ALMEIDA e SILVA, 2005). Durante a maturação, o paladar da cerveja é aperfeiçoado devido à reabsorção de compostos indesejados, como diacetil e acetaldeído, à carbonatação natural da bebida e às reações físico-químicas que alteram a sua composição (EATON, 2006). A

maturação é realizada em baixas temperaturas, perto de -2°C , por um período que varia de 2 a 4 semanas (BRIGGS et al., 2004).

A cerveja antes de ser envasada, geralmente, é filtrada e carbonatada. O método mais comum é a utilização de filtros com auxílio de terra de diatomácea devidamente calcinada e com concentração de ferro controlada (SANTOS, 2009). A filtração proporciona à cerveja uma melhor estabilidade microbiológica, coloidal e organoléptica, pois remove pequenas partículas e células de levedura, deixando-a clara e brilhante (EATON, 2006). O ajuste de CO_2 , além de contribuir com a formação da espuma, desempenha um papel importante no prolongamento do prazo de validade da cerveja (SANTOS, 2009).

A etapa final da produção de cerveja é o envase, que pode ser feito diretamente em barris, latas ou garrafas (EATON, 2006). As latas e garrafas podem ser pasteurizadas, o que confere estabilização microbiológica da bebida (MORADO, 2009).

2.6 Processos de obtenção de cervejas sem álcool

O processo de fabricação difere apenas em algumas etapas da produção de uma cerveja convencional (BLANCO et al., 2014).

O principal desafio na produção de cerveja com baixo teor alcoólico e de cerveja sem álcool é elaborar um produto com características organolépticas semelhantes à de uma cerveja normal. As características organolépticas e sensoriais relevantes da cerveja não alcoólica incluem sabor, cor, propriedades de formação de espuma, corpo, viscosidade, paladar e estabilidade coloidal, da mesma forma que a cerveja convencional (FRANCESCO et al., 2014).

No entanto, cervejas sem álcool e de baixo teor alcoólico presentes no mercado diferem em sabor e aroma da cerveja convencional (DEL OLMO et al., 2014). Geralmente, estas bebidas apresentam imperfeições tal como menos corpo, baixo perfil aromático, danos térmicos, gosto doce ou sabor de mosto (PERPÈTE; COLLIN, 2000).

O processo de obtenção de cervejas sem álcool pode ser dividido em dois grandes grupos (VAN IERSEL et al., 1995). Em primeiro lugar, existem os

métodos físicos, que são aqueles que envolvem a remoção do álcool após a etapa de fermentação, tais como evaporação, osmose reversa e filtração por membranas. Já o segundo são os métodos biológicos, onde ocorre à restrição da formação do álcool através de modificações durante a etapa de fermentação, esta limitação pode ser devido a um preparo diferenciado do mosto cervejeiro ou manipulação nas condições do processo fermentativo relacionados com temperatura, tempo ou utilização de uma levedura especial (Figura 5) (BRÁNYIK et al., 2012).

Figura 5- Esquema dos métodos mais comuns de produção de cerveja sem álcool.

Fonte: BRÁNYIK et al. (2012) – adaptado e traduzido pelo autor.

2.6.1 Produção de cerveja sem álcool por métodos de remoção do etanol

As tecnologias aplicadas para a remoção total ou parcial do etanol das cervejas convencionais podem ser divididas em dois grupos, existem os procedimentos térmicos e procedimentos que separam o álcool através de membranas (BLANCO et al., 2014).

2.6.1.1 Processos térmicos

2.6.1.1.1 Evaporação por camada fina

A utilização de evaporadores de camada fina visa minimizar os efeitos da degradação de compostos voláteis, geralmente existentes nos processos térmicos. Nesse processo são usadas temperaturas inferiores a 40°C e o tempo de exposição térmica é reduzido (BRÁNYIK et al., 2012).

A cerveja entra no evaporador através de um tubo de alimentação e é distribuída ao longo da parte interna de superfícies rotativas cônicas. Devido a força centrífuga, a cerveja é espalhada em camadas muito finas (0,1mm). A cerveja permanece na superfície de aquecimento por poucos segundos e alcança uma temperatura de 30 a 40°C. A cerveja já com teor de álcool reduzido é recolhida na borda exterior dos cones e, em seguida, sai do evaporador sendo transportada para refrigeradores, onde é novamente carbonatada e refrigerada (Figura 6) (BRÁNYIK et al., 2012).

Figura 6- Processo de evaporação por camada fina.

Fonte: Silva et al. (2010).

A cerveja pode ser novamente reciclada no interior do sistema com o objetivo de remover uma concentração maior de álcool. Posteriormente, é necessário realizar ajustes quanto ao teor de água (SILVA et al., 2010).

2.6.1.1.2 Destilação a vácuo

A destilação conduzida a vácuo permite que a remoção de álcool ocorra em temperaturas menores (40-60°C). Apesar de reduzir a perda de muitos compostos, a destilação não evita a perda de ésteres (90-100%) e de álcoois superiores (70-80%) (SILVA et al., 2010).

A cerveja é previamente aquecida a 35°C e passada por um trocador de calor (50°C). Em seguida, a parte líquida (cerveja com teor de álcool reduzido) é coletada por um separador e o vapor gerado é transferido para um condensador, onde é obtido um subproduto rico em etanol (SILVA et al., 2010). Este subproduto apresenta concentração de aproximadamente 9% (v/v), e pode ser utilizado como precursor na fabricação de vinagre (REGAN, 1990). Os vapores ricos em álcool podem ser concentrados em até 75% (v/v) e vendidos (NARZISS et al., 1993).

Este sistema contém uma unidade de recuperação de aromas, os componentes aromáticos são recuperados e redirecionados para a cerveja (KOERNER, 1996), porém esta etapa consegue reduzir as perdas voláteis em apenas 50% (SILVA et al., 2010).

2.6.1.2 Membranas

2.6.1.2.1 Diálise

No método de diálise, o gradiente de concentração é a força motriz da transferência de matéria através da membrana semipermeável (SILVA et al., 2010; BRÁNYIK et al., 2012). Neste tipo de processo, a difusão molecular é o mecanismo predominante de transferência de massas entre as duas soluções através dos poros da membrana semipermeável (PETKOVSKA et al., 1997). As membranas de diálise são compostas por derivados de celulose ou outros materiais sintéticos e são permeáveis apenas a certas moléculas, dependendo do

tamanho dos poros e das propriedades da superfície da membrana (BRÁNYIK et al., 2012).

O processo de diálise é realizado em baixas temperaturas (1-6°C), deste modo o impacto térmico sobre o produto é evitado. Geralmente, aplica-se uma pequena pressão no lado da membrana onde está situada a cerveja com o objetivo de facilitar a taxa de difusão e suprimir a difusão de água para a cerveja (PETKOVSKA et al., 1997). Entretanto, nessas condições o transporte por convecção é acrescentado ao mecanismo. O elemento difusivo está associado à remoção das moléculas de etanol, enquanto o elemento conectivo está associado ao transporte de moléculas maiores, o que prejudica a qualidade do produto final (SILVA et al., 2010).

Apesar da otimização das membranas e dos parâmetros do processo a remoção seletiva do etanol não pode ser alcançada, assim outros componentes com baixa massa molar, como álcoois superiores e ésteres, são removidos quase que completamente da cerveja (BRÁNYIK et al., 2012)

2.6.1.2.2 Osmose reversa

No processo de osmose reversa, a cerveja convencional permeia à superfície da membrana em alta pressão, quando a pressão transmembrana excede substancialmente a pressão osmótica da cerveja ocorre o transporte de água e de etanol através da membrana, de modo que os outros constituintes da cerveja, tais como compostos de aroma e sabor, permanecem inalterados (CATARINO et al., 2006).

As membranas utilizadas na remoção de etanol, geralmente, são assimétricas e podem ser feitas de acetado de celulose, nylon ou outros polímeros (SILVA et al., 2010). Segundo Brányik et al. (2012), a membrana ideal apresenta as seguintes características:

- Elevada permeabilidade ao álcool e água.
- Baixa permeabilidade para os outros constituintes da cerveja (compostos de aroma e sabor e substâncias amargas).
- Resistência a temperatura.

- Resistência a limpeza e desinfecção.
- Resistência química e mecânica.
- Baixo custo.

As temperaturas utilizadas no processo de remoção do etanol por osmose reversa são inferiores a 15°C, assim substâncias sensíveis à temperatura, como vitaminas e compostos de aroma e sabor, não sofrem nenhuma alteração química (BRÁNYIK et al., 2012; SILVA et al., 2010). Contudo, durante o processo existem perdas significativas de produtos voláteis, principalmente de álcoois superiores e ésteres. Estas perdas estão associadas à seletividade das membranas (KAVANAGH et al., 1991; STEIN, 1993).

2.6.2 Produção de cerveja sem álcool por métodos de restrição na formação do etanol

As tecnologias para a produção de cerveja sem álcool com base na restrição da formação de álcool podem ser divididas de acordo com o equipamento de produção utilizado (BRÁNYIK et al., 2012).

Os procedimentos mais explorados são aqueles que alteram algumas etapas dos processos convencionais de fabricação de cerveja, como utilização de leveduras especiais, alteração no processo fermentativo e alteração no mosto cervejeiro (SILVA et al., 2010).

2.6.2.1 Uso de leveduras especiais

A utilização de leveduras especiais está associada com a tendência destas produzirem uma quantidade menor de álcool quando comparadas com as leveduras tradicionais cervejeiras (BRÁNYIK et al., 2012).

A abordagem mais comum é o uso de leveduras que não conseguem assimilar maltose, principal açúcar fermentável do mosto cervejeiro. Por exemplo, a *Saccharomyces ludwigii* é considerada uma levedura adequada para produzir

bebidas fermentadas com baixo teor alcoólico devido a sua incapacidade de fermentar maltose e maltotriose (FRANCESCO et al., 2015).

Entretanto, devido ao elevado teor de maltose, as cervejas produzidas por este processo apresentam um sabor adocicado, não encontrado nas cervejas convencionais (SILVA et al., 2010). O alto teor de extrato residual também eleva o risco de contaminação, portanto faz-se necessário padrões rigorosos de controle microbiológico e sanitização (MULLER, 1990).

Outras estratégias para a produção de cerveja com baixo teor de álcool envolvem a modificação genética da levedura tanto por mutação como por engenharia genética (STREJC et al., 2013).

A técnica de mutagênese aleatória induzida por radiação ultravioleta, seguida da seleção dos mutantes, tem sido aplicada para isolar linhagens não-recombinantes de leveduras com defeito no ciclo do ácido cítrico (NARVÁTIL et al., 2002; BRÁNYIK et al., 2012). De acordo com Narváttil et al. (2002), essas linhagens produzem quantidade elevadas de ácidos orgânicos devido à ausência de atividade das enzimas do ciclo do ácido cítrico. A rápida formação de ácidos orgânicos pelo ciclo de Krebs no mosto aerado é responsável pelo declínio do pH. Por sua vez, o baixo pH limita a formação de etanol através da diminuição da atividade da enzima álcool desidrogenase.

Linhagens com deleções nos genes das enzimas do ácido cítrico também tem sido alvo de estudos (SELECKY et al., 2008). Entretanto, a cerveja produzida com levedura geneticamente modificada mostrou elevados níveis de acetaldeído, acetoina e diacetil, resultando num sabor mais parecido de vinho tipo xerez do que de cerveja convencional (FRANCESCO et al., 2015). Segundo Brányik et al. (2012), a composição da cerveja sem álcool produzida pela deleção de genes foi próxima a produzida por mutação aleatória.

No momento, essas técnicas possuem aplicações comerciais limitadas, restritas exclusivamente as pesquisas (SILVA et al., 2010).

2.6.2.2 Alterações no processo de fermentação

O objetivo deste método é manter a concentração de álcool baixa pela remoção da levedura ou criar condições para limitar o metabolismo da levedura (BRÁNYIK et al., 2012).

Estas abordagens representam o modo mais usual de produzir cerveja sem álcool ou com baixo teor de álcool na indústria cervejeira (BRÁNYIK et al., 2012).

A atividade da fermentação pode ser interrompida pela elevação ou queda brusca de temperatura (choque térmico), pela remoção das leveduras do meio fermentativo (centrifugação ou filtração) e pelo aumento de pressão (BRÁNYIK et al., 2012). No entanto, quando esses procedimentos são aplicados há uma menor formação de ésteres e álcoois superiores, tal fato está diretamente ligado a restrição da formação do etanol (SILVA et al., 2010).

A baixa temperatura é o método mais prático para limitar o metabolismo da levedura. Nestas condições de temperatura (-1 a 0°C), a formação do álcool é lenta, porém outros processos bioquímicos tais como a formação de ésteres e álcoois superiores e a redução de compostos de carbonila apresentam atividades moderadas (BRÁNYIK et al., 2012). Compostos de carbonila são conhecidos por contribuir com sabor de mosto encontrado na maioria das cervejas sem álcool do mercado (SILVA et al., 2010).

2.6.2.3 Alterações na composição do mosto cervejeiro

O principal objetivo da mosturação é hidrolisar completamente o amido em carboidratos fermentáveis e dextrinas solúveis (BRÁNYIK et al., 2012).

A hidrólise do amido é atribuída, principalmente, às atividades enzimáticas das β e α -amilases. A β -amilase (temperatura ótima de 62-65°C) hidrolisa o amido em maltose (fermentável), enquanto α -amilase (temperatura ótima 72-75°C) hidrolisa o amido em dextrinas (não fermentáveis). Assim, o espectro de açúcares formados depende da atividade destas enzimas (KUNZE, 1996).

A concentração final dos carboidratos fermentáveis no mosto determina o conteúdo de álcool da cerveja. Por conseguinte, alterando o processo de mosturação, é possível obter um perfil de açúcares que durante a etapa de

fermentação, na sua maioria, não serão convertidos em etanol (SILVA et al., 2010).

Uma estratégia utilizada é a inibição da sacarificação pela β -amilase. Neste procedimento, a mosturação é feita em altas temperaturas (70-80°C), assim a β -amilase é rapidamente inativada, contudo a α -amilase apresenta atividade enzimática. Deste modo, um mosto com uma alta proporção de dextrina em relação aos açúcares fermentescíveis será produzido. A concentração final de etanol também é influenciada pela densidade do mosto, atenuação atingida durante a fermentação e pela diluição final (BRÁNYIK et al., 2012). De acordo com Brányik et al. (2012), o produto final apresenta um bom aroma, entretanto o sabor de mosto está presente. Geralmente, as cervejas obtidas por este processo apresentam características diferentes das cervejas convencionais.

Segundo Silva et al. (2010), um mosto com baixa concentração de maltose pode ser conseguido através das seguintes estratégias:

- Mosturação a frio, aplica-se temperaturas inferiores a 60°C, assim não permite uma sacarificação extensa.
- Variedades especiais de malte, que apresentem baixa atividade da β -amilase.
- Substituição de parte do mosto (40-60%) por bagaço de malte.

Outra estratégia é o uso exclusivo do bagaço de malte para preparar um mosto com baixa concentração de açúcares fermentáveis. A principal vantagem deste método é a produção de duas cervejas diferentes a partir da mesma quantidade de malte de cevada, contudo ainda não é claro se alguém está usando este método (BRÁNYIK et al., 2012).

2.7 Análise sensorial

A análise sensorial é uma disciplina científica empregada para medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos do olfato, visão, paladar, tato e audição (TEIXEIRA, 2009).

A análise sensorial é comumente utilizada no controle de qualidade de alimentos e bebidas, visando manter as características comerciais do produto, atendendo as exigências dos consumidores (STELLA, 2000).

Existem vários métodos para se fazer uma análise sensorial, o método é selecionado conforme a finalidade da análise, por exemplo, os métodos afetivos visam verificar a aceitabilidade do mercado consumidor.

Os métodos afetivos podem ser feitos através dos testes de preferência, onde é analisado a preferência e o grau de satisfação do consumidor com um novo produto e/ou pelo teste de aceitação, onde a probabilidade de adquirir o produto é analisada (TEIXEIRA, 2009).

A análise sensorial pode ser realizada por provadores não treinados através do teste de aceitação, que se utiliza de uma escala hedônica estruturada em pontos, que representam o grau de gostar ou desgostar (DUTCOSKY, 1996).

Desta forma, a qualidade sensorial do produto está intimamente ligada com o grau de satisfação do consumidor. Portanto, o uso da análise sensorial é de grande importância em estudos que envolvem a produção de cervejas, pois contribui para a determinação da qualidade e na aceitação de um novo produto (CARDELLO, 1999).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem por objetivo desenvolver um processo para a produção de uma cerveja *lager* com teor de álcool reduzido, utilizando o bagaço de malte como substituinte de parte do malte total.

3.2 Objetivos específicos

- Produzir cervejas com baixo teor alcoólico utilizando o bagaço de malte nas proporções 25:75, 50:50, 75:25 e 0:100 em relação bagaço: malte;
- Avaliar as características físico-químicas dos diferentes mostos;
- Analisar sensorialmente as bebidas e sua aceitação pelo consumidor;
- Produzir em escala piloto a cerveja mais aceita na análise sensorial.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido nas instalações da Planta Piloto de Bebidas do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena-USP.

4.1 Material

4.1.1 Água

A água empregada no processo de produção do mosto cervejeiro foi obtida do poço artesiano localizado no Campus I da Escola de Engenharia de Lorena. Na tabela 4, encontra-se a composição da água.

Tabela 4- Características físico-químicas da água do poço artesiano da EEL.

Características	Resultados	Possível afetação
pH	6,66	Corrosão ou inibição das enzimas
Odor	Poucos odores	Defeito sensorial (odor)
Sabor	Livre	Defeito sensorial (teste)
Aspecto	Limpo	Defeito sensorial (visual)
Turbidez	0,54 UNT	Defeito sensorial (visual)
Cor	< 5 mg PI/L	Defeito sensorial (visual)
Dureza total	26 mg/L	Depende do tipo de cerveja a elaborar
Cloretos	1,2 mg/L	Corrosão e sabor salgado
Nitrato	0,19 mg/L	Câmbios na fermentação (elaboração e sensorial)
Ferro	0,055 mg/L	Deteção sensorial (teste e turbidez)

Fonte: Aizemberg, 2012.

4.1.2 Malte de cevada

O malte utilizado foi o malte claro tipo *Pilsen*, gentilmente doado pela Malteria do Vale S/A, situada em Taubaté – SP, em sacos de 50 Kg.

4.1.3 Lúpulo

O lúpulo da variedade Zeus foi utilizado na forma de *pellets*, com 14% de α -ácidos e foi gentilmente doado pela Wallerstein Industrial e Comercial Ltda., São Paulo – SP.

4.1.4 Bagaço de Malte

O bagaço de malte utilizado nos experimentos foi obtido em um processo de elaboração de mostos puro malte, ou seja, 100% malte de cevada.

4.1.5 Levedura

A levedura utilizada foi *Saccharomyces cerevisiae* de baixa fermentação, M84 da Mangrove Jacks, adquirida em sachês de 11,5 g.

Trata-se de uma levedura *lager* liofilizada com temperatura de fermentação que varia de 10-15°C.

4.2 Etapas de produção do mosto cervejeiro

Foram elaborados quatro tipos de mostos com diferentes proporções de bagaço de malte e malte. A produção de cerveja foi realizada inicialmente com um volume de 3 L em escala de bancada e o processo de produção foi o mesmo independente da proporção de bagaço de malte. A mosturação foi conduzida com as seguintes proporções de bagaço: malte: 25:75, 50:50, 75:25 e 0:100.

4.2.1 Obtenção do Bagaço de Malte

O bagaço de malte utilizado nos experimentos foi aquele resultante de uma preparação de cerveja puro malte.

4.2.2 Moagem do malte

O malte de cevada foi moído a seco em moinho de dois rolos motorizado da Mec Bier com distância entre rolos de 0,7mm.

4.2.3 Mosturação

O malte previamente moído e o bagaço de malte foram introduzidos na tina de mostura na presença de água na proporção 2,5:1 (kg de água por kg de malte), visando a obtenção de um mosto com baixo teor de extrato fermentescível. Os cálculos de malte, bagaço de malte e água primária encontram-se no Apêndice A. A mosturação foi realizada pelo método de infusão simples de acordo com a Figura 7.

Figura 7- Programação de tempo e temperatura no processo de mosturação.

Fonte: Arquivo pessoal.

Ao final da mosturação, em 72°C, foi realizado o teste de Iodo 0,2N em temperatura ambiente com o propósito de verificar a sacarificação incompleta do amido. Após a confirmação da hidrólise parcial do amido, pela presença da coloração violeta, o mosto foi aquecido até 78°C com o intuito de inativar as enzimas.

4.2.4 Filtração

A filtração do mosto foi realizada na própria tina de mosturação, onde o bagaço de malte total foi separado do mosto primário através da recirculação do mosto na camada ou torta de bagaço, a qual atuou como elemento filtrante.

Após esse processo, a torta de bagaço foi lavada com certo volume de água secundária a 75°C, formando o mosto de apronte.

4.2.5 Fervura

O mosto foi fervido durante 60 minutos. Iniciada a fervura foi adicionado lúpulo em quantidades e tempos pré-determinados para se obter um mosto com 13 IBU.

Após o término da fervura, o mosto foi resfriado através de um resfriador de imersão (serpentina) até a temperatura de fermentação (12°C). Terminado o resfriamento foi feito o procedimento de whirlpool ou redemoinho, desta forma foi possível separar o mosto do *trub*, material residual de compostos insolúveis do lúpulo e aglomerados proteicos.

4.2.6 Fermentação e Maturação

O mosto resfriado foi transferido para o fermentador. Após a hidratação da levedura liofilizada, o inóculo foi realizado conforme as recomendações do fabricante.

A fermentação foi conduzida em um fermentador cilíndrico com capacidade de 5 L com temperatura controlada a 12°C em uma geladeira equipada com termostato.

Terminada a fermentação primária, após a estabilização do processo fermentativo, a cerveja foi transferida para câmara fria a 0°C e mantida por 20 dias para maturação da bebida.

4.2.7 Finalização da bebida

A bebida foi envasada em garrafas de vidros contendo uma solução de 5 g/L de açúcar cristal e mantidas em repouso em temperatura ambiente por 20 dias para refermentação na própria garrafa, o que promoveu a carbonatação da bebida.

4.3 Acompanhamento analítico dos experimentos

4.3.1 Mosturação

Foram coletadas amostras de 10 ml para análises da concentração de extrato (refratômetro digital) e pH (pHmetro de bancada)

4.3.2 Acompanhamento da fermentação

Durante todo o processo de fermentação foram retiradas amostras de 15mL a cada 12h para análises físico-químicas e de concentração celular. Estas amostras foram desgaseificadas por agitação em vórtex durante 1 minuto.

4.3.2.1 Análises físico-químicas

Os sobrenadantes obtidos pela centrifugação a 4000xg por 20 minutos de 10 ml das amostras desgaseificadas foram utilizados para quantificar o teor alcoólico, extrato real, extrato original, extrato aparente, atenuação real de fermentação, atenuação aparente de fermentação e densidade (BeerAnalyser 2, ANTONPAAR®, Áustria) e pH (pHmetro de bancada).

4.3.2.2 Concentração celular

A concentração celular foi determinada por meio da contagem de células na Câmara de Neubauer, sendo expressa em células/mililitro.

A determinação da viabilidade celular foi realizada pelo método internacional de coloração com azul de metileno segundo a American Society of Brewing Chemists - ASBC (ASBC, 1996).

4.4 Análise sensorial

A análise sensorial da cerveja produzida em escala de bancada foi realizada por Testes de Comparação Pareada e de Aceitação com o objetivo de avaliar os atributos sensoriais da bebida e sua aceitabilidade bem como identificar a intenção de compra pelo consumidor.

Os testes foram realizados com público universitário nas cabines do laboratório de análise sensorial da Planta Piloto de Bebidas (EEL/USP). Primeiramente, as cervejas foram comparadas para a escolha da melhor proporção de bagaço de malte. Posteriormente, a análise sensorial foi realizada com a cerveja experimental produzida em maior escala para avaliar a aceitação do produto final, sendo comparada com duas cervejas comerciais.

As amostras foram servidas em copos plásticos transparentes e descartáveis, codificados com números aleatórios de três dígitos, contendo aproximadamente 50 mL de cerveja na temperatura de consumo. Cada provador recebeu três amostras juntamente com um copo de água e um biscoito isento de sal para limpar o paladar entre uma amostra e outra.

Uma escala hedônica estruturada de nove pontos foi utilizada para avaliar a aceitação das amostras. Já para a avaliação da intenção de compra foi utilizada uma escala estruturada de cinco pontos, conforme o modelo de ficha demonstrado na Figura 8.

Figura 8- Ficha utilizada nos testes de comparação e aceitação da análise sensorial.

Nome: _____		Data: __/__/____		idade: _____	
<p>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.</p>					
(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					
<p>Assinale qual seria sua atitude quanto à compra do produto:</p>					
(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					
Comentários: _____					

Fonte: Arquivo pessoal.

4.5 Produção em escala piloto

Após a análise sensorial, a cerveja que apresentou a melhor aceitação sensorial foi produzida em escala piloto (200 L). A bebida foi produzida de acordo com a metodologia proposta nos itens 4.2.2 - 4.2.6. A cerveja foi filtrada em um filtro de pratos com auxílio de terra diatomácea. Posteriormente, a carbonatação foi realizada através da injeção de CO₂ e o produto final foi envasado em garrafas.

O acompanhamento do processo fermentativo foi realizado de modo semelhante aos experimentos feitos em escala de bancada, conforme descrito no item 4.3.2.

4.6 Metodologia de análise dos resultados

Os experimentos foram conduzidos de acordo com um delineamento inteiramente casualizado e realizados com duas repetições.

Os parâmetros avaliados na análise sensorial e os dados das variáveis físico-químicas decorrentes dos processos fermentativos foram avaliados segundo a análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade e para a comparação das médias foi aplicado o teste de Tukey, com significância de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Produção dos mostos

A caracterização dos diferentes mostos produzidos em escala de bancada encontra-se na tabela 5. Nota-se que após a hidrólise do amido durante a etapa de mosturação, o mosto primário apresenta maior teor de açúcares solúveis comprovado com os maiores valores de °Brix. Entretanto, antes da etapa de fervura, o mosto primário é diluído com a água secundária na lavagem do bagaço de malte, o que reduz °Brix do mosto. Na etapa de fervura ocorre a evaporação da água secundária excedente, tornando o mosto mais concentrado, elevando assim o °Brix do mosto final.

Tabela 5- Características dos mostos produzidos.

Mosto	Puro Malte	Bagaço 25/75	Bagaço 50/50	Bagaço 75/25
Brix Mosto Primário	25	15	7,2	4,4
Brix mosto pré-fervura	4,9	2	1	0,8
Brix mosto final	5	3,8	2	1,6

Fonte: Arquivo pessoal.

Observa-se que quanto maior a proporção de bagaço de malte utilizada, menor é o °Brix do mosto. A baixa concentração de açúcares provenientes do bagaço de malte e a diminuição da quantidade de grãos de malte são responsáveis pela diminuição do °Brix.

5.2 Parâmetros de fermentação

As cervejas obtidas com os quatro diferentes tipos de mostos apresentaram tempos distintos de fermentação, sendo 180 horas para as cervejas puro malte e com 25% de bagaço, 156 horas para as cervejas com 50% de bagaço e 144 horas para as cervejas com 75% de bagaço. A redução do tempo de fermentação está associada com a quantidade inicial de extrato fermentescível do mosto. Assim, quanto menor a concentração de extrato inicial, menor é o tempo de fermentação. As cervejas puro malte e com 25% de bagaço apresentaram extrato inicial de 5°Brix e 3,8°Brix, respectivamente, enquanto as cervejas com 50% de bagaço apresentaram 2°Brix e as cervejas com 75% de bagaço apresentaram 1,6 °Brix.

Outro fator que pode ter contribuído com a diminuição do tempo de fermentação dos mostos com 50% e 75% de bagaço, foi a suplementação dos mesmos com os aminoácidos oriundos do bagaço de malte, em especial a lisina. Em estudos realizados por Lekkas et al. (2007) houve uma redução de 48 horas no tempo de fermentação do mosto suplementado com lisina quando comparado com o mosto controle, sugerindo que este aminoácido tem papel fundamental no desenvolvimento celular, contudo não está claro como isso aconteceu. Ademais, a adição do extrato do bagaço de malte durante a fermentação, também demonstrou uma melhora no rendimento da levedura (KADO et al., 1999).

Nas Figuras de 9 a 12 podem ser observados os perfis de fermentação para as diferentes cervejas produzidas e na Tabela 6 suas respectivas análises físico-químicas.

A Figura 9 apresenta a evolução da concentração do extrato real, da concentração de etanol e do pH da cerveja puro malte. Observa-se um comportamento característico de fermentações de processos cervejeiros, onde ocorre o consumo do substrato e a formação do produto (etanol) (MUNROE, 2006). O mosto puro malte começou com uma concentração de extrato real de 5,2°P e ao final da fermentação apresentou valor de 2,86°P, uma vez que os açúcares fermentescíveis foram convertidos pela levedura, durante a fermentação, em CO₂ e álcool. Esse último, alcançou valor final de 1,615% (v/v).

Verifica-se também que ocorreu uma redução no pH, o qual iniciou-se com 5,7, diminuindo ao longo das horas, e atingindo o valor de 4,8. Segundo Borzani et al. (1983), a diminuição do pH durante a fermentação está relacionada com a formação de ácidos orgânicos, como ácido acético, succínico e lático.

Figura 9- Perfil de Fermentação da cerveja puro malte. (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.

Fonte: Arquivo pessoal.

As cervejas com bagaço de malte apresentaram perfis semelhantes de fermentação quando comparadas com a cerveja puro malte, com consumo de extrato no decorrer do tempo e formação de álcool, sugerindo que o bagaço de malte não influenciou a fermentação. Entretanto, as cervejas com bagaço atingiram valores inferiores de teor alcoólico devido a menor concentração de extrato no mosto (CURI, 2006). Os valores de teor alcoólico finais foram de 1,415% (v/v) para a cerveja com 25% de bagaço (Figura 10), 0,705% (v/v) para a cerveja com 50% de bagaço (Figura 11) e 0,665% (v/v) para a cerveja com 75% de bagaço (Figura 12). Hendges (2014) estudou a produção de cervejas de baixo teor alcoólico utilizando quinoa malteada como adjunto de malte nas proporções de 10, 20, 30 e 45% e obteve valores superiores aos encontrados no presente trabalho, na faixa de 3% (v/v). Já as cervejas sem álcool produzidas com leveduras com defeito no ciclo do ácido cítrico apresentaram valores inferiores entre 0,07 e 0,31% (v/v) (NARVÁTIL et al., 2002). De acordo com Sohrabvandi et al. (2010), cervejas com baixo teor alcoólico apresentam um conteúdo de álcool

inferior a 2,5% (v/v), sugerindo que as cervejas produzidas neste trabalho estão situadas nessa categoria.

Figura 10- Perfil de Fermentação da cerveja com 25% de bagaço de malte. (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.

Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 11- Perfil de Fermentação da cerveja com 50% de bagaço de malte. (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.

Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 12- Perfil de Fermentação da cerveja com 75% de bagaço de malte. (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.

Fonte: Arquivo pessoal.

Assim como ocorreu com a cerveja puro malte, verifica-se a queda dos valores de pH das cervejas com bagaço de malte ao longo da fermentação, atingindo valores semelhantes ao pH da cerveja puro malte. Tal fato sugere que a presença do bagaço de malte não interferiu no pH do processo de fermentação. O pH final foi de 4,7 para a cerveja com 25% de bagaço e aproximadamente 5 para as cervejas com 50% e 75% de bagaço. Mathias et al. (2015) demonstraram que o pH do bagaço de malte é compatível com o intervalo de pH utilizado para o processo de mosturação, e consequentemente, não interfere no pH do mosto.

Para uma análise geral dos dados, podem ser vistos na Tabela 6 os valores de álcool, de extrato real, original e aparente, a atenuação real e aparente de fermentação e a densidade das cervejas produzidas com os quatro mostos diferentes.

Tabela 6- Análise físico-química da cerveja puro malte e das cervejas com diferentes proporções de bagaço de malte.

	Puro Malte	Bagaço 25/75	Bagaço 50/50	Bagaço 75/25
Álcool (%v/v)	1,615	1,435	0,705	0,665
Extrato real (% m/m)	2,86	2,145	1,155	1,04
Extrato original (°P)	5,405	4,42	2,29	2,115
Extrato aparente (°P)	2,295	1,63	0,895	0,795
Atenuação real (%)	47,72	51,71	49,8	51,28
Atenuação aparente (%)	57,455	62,66	60,845	72,11
Densidade (g/cm ³)	1,007125	1,004525	1,00167	1,00128

Fonte: Arquivo pessoal.

A atenuação, ou grau de fermentação, é a medida da conversão do açúcar presente no mosto em álcool e CO₂. A atenuação aparente expressa a porcentagem de extrato que foi fermentada, entretanto considera a presença do álcool, cuja densidade interfere na medição. Já a atenuação real desconsidera a presença do álcool, deste modo expressa o real valor de conversão (KUNZE,1996).

Na Tabela 6, observa-se que o menor grau de atenuação aparente foi de 57,455% para a cerveja puro malte e o maior foi de 72,11% para cerveja com 75% de bagaço. Segundo Senai (1997), os valores de atenuação aparente devem

estar compreendidos entre 68% e 72% ao final da fermentação. Os valores inferiores encontrados no presente trabalho podem estar relacionados com a baixa fermentabilidade dos mostos. Durante a etapa de mosturação, a sacarificação do amido foi realizada a 70°C, o que resulta na inativação da enzima β -amilase. Nessas condições, a concentração de açúcares fermentáveis do mosto final é reduzida. Hendges (2014) obteve aproximadamente 60% de atenuação aparente para uma cerveja *lager* com 10% de quinoa malteada quando utilizou temperatura semelhante de mosturação. Muller (1991) analisou o efeito da temperatura de mosturação na composição dos açúcares do mosto, segundo os experimentos, temperaturas superiores a 70°C afetaram de forma significativa a fermentabilidade do mosto final.

A Figura 13 mostra a concentração e viabilidade celular das diferentes cervejas produzidas. No início da fermentação, observa-se uma fase de latência ou fase *lag*, onde a célula sintetiza as enzimas necessárias para o metabolismo dos componentes presente no mosto. Trata-se de um período de adaptação da levedura (HISS, 2001). Para a cerveja puro malte e com 50% de bagaço (Figura 13A e 13C, respectivamente) verifica-se uma fase *lag* de 24 horas, já a cerveja com 75% de bagaço (Figura 13D) apresentou uma fase de latência superior, de 48 horas. Exceto a cerveja com 25% de bagaço (Figura 13B), as cervejas apresentaram nas primeiras horas de fermentação um leve aumento com uma posterior queda na concentração celular. Entretanto essa diminuição é um comportamento normal, uma vez que as células ainda estão no período de adaptação (MATOS, 2009).

Nota-se que após esse período de latência, ocorre uma curta fase de crescimento exponencial, alcançando os maiores valores de concentração celular. Nesta fase, o crescimento celular atingiu um valor máximo de $4,45 \times 10^6$ cel/mL para cerveja puro malte, ao redor de 48h, e alcançou um valor mínimo de $3,1 \times 10^6$ cel/mL para a cerveja com 25% de bagaço, por volta de 84h.

Posteriormente, ocorre uma queda gradativa na concentração de células em suspensão, sendo este um perfil característico da fase final da fermentação (RUSSEL, 2006). Nesta fase, ocorre a floculação das leveduras no mosto cervejeiro, que tem início quando há uma redução na quantidade de substrato disponível para a fermentação (ENGASSER et al., 1981). A floculação é um comportamento característico de leveduras cervejeiras e auxilia na clarificação da

bebida, visto que facilita a sua separação (RUSSEL, 2006). Durante o declínio da concentração celular, pode ocorrer a lise celular através da ação das enzimas intracelulares.

Figura 13- Concentração total de células e concentração das células viáveis em suspensão durante a fermentação do mosto puro malte (A) e dos mostos com 25% de bagaço (B), 50% de bagaço (C) e 75% de bagaço (D).

Fonte: Arquivo pessoal

5.3 Análise sensorial

A análise sensorial das bebidas produzidas em escala de bancada teve a colaboração de estudantes, ex-alunos e funcionários da EEL/USP, com faixa etária de 18 a 57 anos.

A distribuição dos provadores por sexo e por idade encontra-se na Figura 14. Verifica-se a maior participação do sexo masculino, 70% contra 30% do sexo feminino. Já em relação a faixa etária, observa-se que 43% dos provadores possuem entre 26 e 33 anos.

Figura 14- Caracterização dos provadores em relação ao sexo (A) e faixa etária (B).

Fonte: Arquivo pessoal

As notas dos atributos sensoriais avaliados (impressão global, cor, aroma, sabor e aparência) e intenção de compra das cervejas produzidas encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7- Notas dos atributos sensoriais e intenção de compra da análise sensorial das diferentes cervejas obtidas.

	Puro Malte	25/75 Bagaço	50/50 Bagaço	75/25 Bagaço
Impressão Global	7,21±1,22 ^{a*}	5,89±1,48 ^b	5,13±1,63 ^c	5,15±1,8 ^c
Cor	6,68±1,75 ^a	5,49±1,77 ^b	4,85±1,95 ^b	5,02±2,03 ^b
Aroma	7,17±1,20 ^a	6,04±1,37 ^b	5,49±1,76 ^{bc}	5,1±1,82 ^c
Sabor	7,19±1,10 ^a	5,83±1,56 ^b	4,99±1,85 ^c	4,46±2,08 ^c
Aparência	7,02±1,52 ^a	5,57±1,75 ^b	4,94±1,85 ^b	4,96±1,98 ^b
Intenção de Compra	4,22±0,80 ^a	3,41±0,87 ^b	2,70±0,99 ^c	2,61±1,05 ^c

*As médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Arquivo pessoal.

Observa-se que a maior nota obtida para o atributo impressão global foi de 7,21 para a cerveja puro malte, já a nota para a cerveja com 25% de bagaço foi de 5,89. A nota da cerveja puro malte corresponde a “gostei moderadamente” e a nota da cerveja com 25% de bagaço ficou próximo a “gostei ligeiramente”. Brunelli (2012) obteve nota semelhante, compreendida entre “não gostei nem desgostei” e “gostei ligeiramente” para uma cerveja puro malte com 5,54% (v/v) de teor alcoólico.

Para os atributos cor e aparência verifica-se que a cerveja puro malte apresentou os melhores resultados. Já as notas das cervejas com bagaço de malte foram estatisticamente iguais para estes atributos e ficaram compreendidas entre “não gostei nem desgostei” e “gostei ligeiramente”. Duarte (2015) avaliando uma cerveja puro malte *ale* obteve 5,54 e 5,66 para os atributos cor e aparência, respectivamente.

A cerveja com 25% de bagaço obteve notas melhores para os atributos sabor e aroma quando comparadas com as cervejas com maiores proporções de bagaço. A nota do atributo sabor ficou compreendida entre “não gostei nem desgostei” e “gostei ligeiramente”, já a nota do atributo aroma ficou compreendida entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”.

Quanto à intenção de compra, observa-se que a cerveja puro malte e a cerveja com 25% apresentaram os melhores resultados. A nota da cerveja com

25% de malte ficou compreendida entre “tenho dúvidas se compraria ou não este produto” e “provavelmente compraria este produto”, resultado similar ao relatado por Hendges (2014) com uma cerveja comercial. As notas de intenção de compra das cervejas com 50 e 75% de bagaço não apresentaram diferença significativa entre si e os resultados ficaram entre “provavelmente não compraria este produto” e “tenho dúvidas se compraria ou não este produto”.

No presente trabalho, as menores notas dos atributos sensoriais e intenção de compra foram para as cervejas com 50 e 75% de bagaço, sendo que não houve diferença estatística entre as notas de ambas as cervejas. As menores notas sugerem que a maior proporção de bagaço malte afetou os atributos avaliados, em especial o sabor e aroma da cerveja. Foi relatado por três provadores que a cerveja com 75% de bagaço apresentava características que lembravam mais um champanhe do que cerveja convencional.

A aparência das cervejas avaliadas sensorialmente pode ser observada na Figura 15.

Figura 15- Aparência das cervejas produzidas em escala de bancada. 1-Cerveja puro malte; 2-Cerveja com 25% de bagaço; 3-Cerveja com 50% de bagaço; 4-Cerveja com 75% de bagaço.

Fonte: Arquivo pessoal.

5.4 Produção em escala piloto

Após a análise sensorial das cervejas, observou-se que a cerveja com 25% de bagaço de malte foi estatisticamente mais aceita em relação às demais cervejas com bagaço. Deste modo, foi a cerveja escolhida para a produção em escala piloto.

5.4.1 Produção do mosto

Foram produzidos 80 L de cerveja com 25% de bagaço e a característica do mosto elaborado em escala piloto encontra-se na tabela 8.

Tabela 8- Característica do mosto produzido em escala piloto.

Mosto	Escala Piloto
°Brix Mosto Primário	12
°Brix mosto pré-fervura	2,4
°Brix mosto final	3,8

Fonte: Arquivo pessoal.

Observa-se que o valor do °Brix do mosto final foi semelhante ao °Brix do mosto final da cerveja com 25% de bagaço produzida em escala de bancada, sugerindo uma boa reprodutibilidade do processo de mosturação em escala piloto.

5.4.2 Parâmetros de fermentação

O perfil de fermentação do mosto com 25% de bagaço de malte, em escala piloto, pode ser visto na Figura 16.

Figura 16- Perfil de Fermentação da cerveja com 25% de bagaço de malte, produzido em escala piloto (●) Extrato Real (°P); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH.

Fonte: Arquivo pessoal.

Observa-se que a cerveja com 25% de bagaço produzida em escala piloto apresentou perfil de fermentação semelhante ao relatado para a cerveja com 25% de bagaço produzida em escala de bancada, com consumo de substrato ao longo do tempo, formação de álcool e redução do pH. Tanto para a produção em escala piloto quanto para a produção em escala de bancada, o valor de extrato inicial foi similar, aproximadamente 4°P, entretanto o consumo de extrato na escala piloto foi maior, chegando ao valor final de 1,68°P, contra 2,15°P da escala de bancada.

Além disso, a cerveja produzida em escala piloto alcançou um teor alcoólico de 1,6% (v/v) e o pH atingiu o valor final de 4,5, esse último bem próximo ao encontrado para a cerveja produzida em escala de bancada.

Na Tabela 9 verificam-se as características físico-químicas das cervejas com 25% de bagaço produzidas em escala de bancada e escala piloto.

Tabela 9- Comparação dos parâmetros de fermentação das cervejas com 25% de bagaço obtidas em escala de bancada e escala piloto.

	25/75 Bagaço	25/75 Bagaço
	Escala de bancada	Escala piloto
Álcool (%v/v)	1,435	1,6
Extrato real (% m/m)	2,145	1,68
Extrato original (°P)	4,42	4,22
Extrato aparente (°P)	1,63	1,11
Atenuação real (%)	51,71	60,75
Atenuação aparente (%)	62,66	73,71
Densidade (g/cm ³)	1,004525	1,00299
pH	4,7	4,5

Fonte: Arquivo pessoal.

Como já relatado, observa-se que a cerveja produzida em escala piloto apresentou maior consumo de extrato, e conseqüentemente maior produção de álcool. A maior fermentabilidade do mosto pode estar associada com o processo de mosturação da escala piloto, uma vez que este foi conduzido numa tina provido de agitação e com um controle mais preciso de temperatura. Assim, ocorreria uma melhor conversão do amido em açúcares fermentescíveis, o que explicaria o valor superior no consumo de extrato, produção de etanol e atenuação aparente para a escala piloto.

A Figura 17 mostra a concentração e viabilidade celular da cerveja produzida em escala piloto. No início da fermentação, verifica-se um aumento da concentração celular, que atingiu um valor máximo de $8,8 \times 10^6$ cel/mL por volta de 48h. Posteriormente, observa-se uma queda gradual da concentração de células em suspensão com o decorrer do tempo.

A cerveja produzida em escala piloto apresentou maior concentração celular ao longo de toda a fermentação, quando comparada com cerveja produzida em escala de bancada. A maior concentração de leveduras pode estar relacionada com a redução do tempo de fermentação, de 180 horas da escala de bancada para 132 horas da escala piloto. De acordo com Carvalho e Zambiasi (2012), o aumento da concentração de levedura no mosto reduz consideravelmente o tempo de fermentação. Benavides et al. (2010) produzindo

uma cerveja com teor alcoólico inferior a 0,3% (v/v), em escala piloto, relatou um tempo de fermentação de 160 horas, valor superior ao encontrado no presente trabalho.

Figura 17- Concentração total de células e concentração das células viáveis em suspensão durante a fermentação do mosto com 25% de bagaço em escala piloto.

Fonte: Arquivo pessoal.

5.4.3 Análise sensorial

A análise sensorial da cerveja produzida em escala de piloto teve a colaboração de estudantes, ex-alunos e funcionários da EEL/USP, com faixa etária de 19 a 57 anos.

A distribuição dos provadores por sexo e por idade encontra-se na Figura 18. Observa-se a maior participação do sexo masculino, 69% contra 31% do sexo feminino. Já em relação a faixa etária, verifica-se que 48% dos provadores possuem entre 18 e 25 anos.

Figura 18- Caracterização dos provadores em relação ao sexo (A) e faixa etária (B).

Fonte: Arquivo pessoal.

A cerveja produzida em escala piloto foi avaliada sensorialmente, sendo comparada com duas cervejas comerciais. A marca 1 é uma cerveja *lager* com baixo teor alcoólico, enquanto a marca 2 é uma cerveja *lager* convencional com 4,6% (v/v) de teor alcoólico. As notas dos atributos sensoriais avaliados (impressão global, cor, aroma, sabor e aparência) e intenção de compra das cervejas encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10- Notas dos atributos sensoriais e intenção de compra da análise sensorial da cerveja produzida em escala piloto e das cervejas comerciais.

	Marca 1	25/75 Bagaço Escala Piloto	Marca 2
Impressão Global	5,45±1,96 ^{b*}	5,38±1,73 ^b	7,00±1,09 ^a
Cor	6,19±1,67 ^a	5,55±1,80 ^a	6,36±1,49 ^a
Aroma	5,64±1,59 ^b	5,12±1,83 ^b	6,81±1,43 ^a
Sabor	4,81±2,18 ^b	5,02±1,67 ^b	6,88±1,29 ^a
Aparência	6,21±1,88 ^a	5,33±1,75 ^b	6,71±1,42 ^a
Intenção de Compra	2,69±1,22 ^b	2,62±1,00 ^b	3,80±0,96 ^a

*As médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: Arquivo pessoal.

Observa-se que a maior nota obtida para o atributo impressão global foi de 7,0 para a marca 2, já as notas da cerveja com 25% de bagaço e da marca 1 não apresentaram diferença estatística e corresponderam a “não gostei nem desgostei” e “gostei ligeiramente”. Duarte (2012) obteve uma nota inferior de 4,98, compreendida entre “desgostei ligeiramente” e “não gostei nem desgostei” para uma cerveja puro malte.

Para o atributo cor verifica-se que as três cervejas foram estatisticamente iguais e ficaram compreendidas entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, sugerindo que a utilização do bagaço de malte na proporção de 25% não afetou negativamente a cor da cerveja. Já em relação ao atributo aparência, a cerveja com 25% de bagaço obteve nota menor do que as marcas 1 e 2, ficando compreendida entre “não gostei nem desgostei” e “gostei ligeiramente”. Pode-se sugerir que a menor nota esteja relacionada com a menor formação de espuma da cerveja produzida em escala piloto. A redução da espuma é uma desvantagem associada com as cervejas de baixo teor alcoólico, pois o etanol auxilia na formação e estabilidade da espuma (SOHRABVANDI et al., 2010).

A cerveja com 25% de bagaço produzida em escala piloto obteve nota semelhante ao da marca 1 para os atributos sabor e aroma. As notas dos atributos ficaram compreendidas entre “não gostei nem desgostei” e “gostei ligeiramente”. Entretanto, a menor formação de álcool dessas cervejas, e consequentemente a menor formação de subprodutos durante a fermentação, como ésteres e álcoois superiores, pode estar associada com as menores notas obtidas, em especial para os atributos sabor e aroma, quando comparadas com a marca 2. Lehnert et al. (2009) avaliando uma cerveja sem álcool produzida por fermentação limitada obtiveram uma nota pior para o atributo sabor quando comparada a uma cerveja sem álcool comercial. Já Strejc et al. (2013) obtiveram sabores e aromas frutados, que lembravam banana, para uma cerveja sem álcool produzida com leveduras *lager* mutantes.

Quanto à intenção de compra, observa-se que a marca 2 apresentou o melhor resultado. As notas da cerveja com 25% de malte e da marca 1 não apresentaram diferença significativa e ficaram compreendida entre “eu provavelmente não compraria este produto” e “tenho dúvidas se compraria ou não este produto”.

No presente trabalho, as notas dos atributos sensoriais e intenção de compra da cerveja produzida em escala piloto e da marca 1 foram similares, sugerindo que a utilização do bagaço de malte na proporção de 25% proporcionou uma avaliação sensorial semelhante ao de uma cerveja com baixo teor alcoólico comercial.

6 CONCLUSÕES

A utilização do bagaço de malte junto com o malte na etapa de mosturação é uma estratégia viável para a produção de cerveja *lager* com baixo teor alcoólico.

As cervejas com bagaço de malte apresentaram perfis de fermentação semelhantes ao de uma cerveja puro malte. A atenuação real de fermentação dos diferentes mostos apresentou baixo valor devido à temperatura utilizada no processo de mosturação.

O menor teor de extrato fermentescível reduziu o tempo de fermentação das cervejas com 50 e 75% de bagaço, quando comparadas com a cerveja puro malte. Além disso, as maiores proporções de bagaço destas cervejas podem ter fornecido melhores condições nutricionais para a levedura durante a fermentação, o que auxiliaria na redução do tempo de fermentação.

Dentre as cervejas com bagaço de malte, a cerveja com 25% foi a mais aceita sensorialmente nos atributos impressão global, sabor e aroma, bem como na avaliação de intenção de compra.

Houve reprodutibilidade para produção da cerveja com 25% de bagaço em escala piloto, uma vez que a cerveja produzida em escala piloto apresentou características físico-químicas similares ao da cerveja produzida em escala de bancada.

Conclui-se que o bagaço de malte pode ser utilizado como substituinte do malte na fabricação de cervejas tipo *lager* com baixo teor alcoólico produzindo uma bebida com aceitação sensorial semelhante ao de uma cerveja de baixo teor alcoólico comercial.

REFERÊNCIAS

AIZEMBERG, R. 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**. Araraquara: 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. 40 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

ALMAGUER, C., SCHÖNBERGER, C., GASTL, M., ARENDT, E. K., & BECKER, T. Humulus lupulus—a story that begs to be told. A review. **Journal of the Institute of Brewing**, v.120, n 4, p.289-314, 2014.

ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Edgard Blucher, 2005. 550 p.

ASBC – American Society of Brewing Chemists. **Methods of analysis of the American Society of Brewing Chemists. Microbiology**. 8th rev. ed. Minnesota: The Technical Committee and the Editorial Committee of the ASBC, 1996.

BAMFORTH, C. W. A brief history of beer. In: CONVENTION OF THE INSTITUTE OF BREWING. 26. 2002. Asia-Pacific, Singapore, pp 5–12.

BAMFORTH, C.W. Beer and health. In: BAMFORTH. **Beer**. New York: Marcel Dekker, 2009. 229–253.

BENAVIDES, I. A.; ROMERO, L. L.; AUZ, A. E. Cerveza sin alcohol por fermentación limitada. **Cerveza y Malta**, v.199, p. 22-29, 2013.

BLANCO, C. A., ANDRÉS-IGLESIAS, C., & MONERO, O. Low-alcohol beers: flavour compounds, defects and improvement strategies. **Critical reviews in food science and nutrition**, 2014.

BORZANI, W.; AQUARONI, E.; LIMA, U.A. **Engenharia bioquímica**, São Paulo: Edgard Bucher. 1983. V. 3.

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.

BRÁNYIK, T., VICENTE, A., CRUZ, J. M., & TEIXEIRA, J. Continuous primary beer fermentation with brewing yeast immobilized on spent grains. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 4, p. 410-415, 2002.

BRÁNYIK, T., SILVA, D. P., BASZCZYNSKI, M., LEHNERT, R., & SILVA, J. B. A. e. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 4, p. 493-506, 2012.

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, DF, 2009.

BRIGGS, D.E.; BOULTON, C.A.; BROOKES, P.A.; STEVENS, R. Metabolism of wort by yeast. In: _____. **Brewing science and practice**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited e CRC Press, 2004. cap 12, p. 403-471.

BRUNELLI, L.T. **Produção de cerveja com mel: características físicoquímicas, energética e sensorial**. 2012. 90 p. Dissertação (Mestre em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, 2012.

CARDELLO, H. M. A. B. Análise sensorial de aguardentes. BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOOD AND BEVERAGES, **Abstracts**. Araraquara: Gráfica UNESP, 1999.

CARVALHO, D.; ZAMBIAZI, R. Evaluation of the pilsen's beer fermentative process by using different concentrations of *Saccharomyces cerevisiae*. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 22, n. 3, p. 351-357, 2012.

CARVALHO, G.B.M; BENTO, C.V.; ALMEIDA e SILVA, J.B. Elementos Biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1º parte – As leveduras. **Revista Analytica**, n. 25, p. 36-42, Out/Nov. 2006.

CARVALHO, G.B.M; ROSSI, A.A.; ALMEIDA e SILVA, J.B. Elementos Biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 2º parte – A fermentação. **Revista Analytica**, n. 26, p. 46-54, Jan. 2007.

CATARINO, M., MENDES, A., MADEIRA, L. AND FERREIRA, A. Beer dealcoholization by reverse osmosis. **Desalination**, v. 200, p. 397-399, 2006.

CATARINO, M., MENDES, A. Non-alcoholic beer: a new industrial process. **Separation and Purification Technology**, p.342– 351, 2011.

CEPPI, E. L. M.; Brenna, O. V. Brewing with rice malt: a gluten-free alternative. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 116, n. 3, p. 275-279, 2010.

CERVBRASIL. 2015. **Anuário 2015 da Associação Brasileira da Indústria da Cerveja**. Disponível em:

<http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/ANUARIO_CB_2015_WEB.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2016.

COGHE, S., D'HOLLANDER, H., VERACHTERT, H., & DELVAUX, F. R. Impact of dark specialty malts on extract composition and wort fermentation. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 111, n. 1, p. 51-60, 2005.

CORDEIRO, L. G.; EL-AOUAR, Â. A.; GUSMÃO, R. P. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 3, p. 20-22, 2012.

CORDEIRO, L.G., EL-AOUAR, A.A., ARAÚJO, C.V.B. Energetic characterization of malt bagasse by calorimetry and thermal analysis. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 112, p. 713-717, 2013.

CURI, R.A. **Produção de cerveja utilizando cevada como adjunto de malte**. 2006. 136p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2006.

DANIELS, R. Using hops and hop bitterness. In: _____ **Designing great beers**: the ultimate guide to brewing classic beer styles. Boulder: Brewers Publications, 2000. p. 72-90.

DEL OLMO, Á.; BLANCO, C. A.; PALACIO, L.; PRÁDANOS, P.; HERNÁNDEZ, A. Pervaporation methodology for improving alcohol-free beer quality through aroma recovery. **Journal of Food Engineering**, V. 133, p. 1-8, 2014.

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

DRAGONE, G.; MUSSATTO, S. I.; SILVA, J. B. D. A. Use of concentrated worts for high gravity brewing by continuous process: new tendencies for the productivity increase. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 37-40, 2007.

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.

DUARTE, L.G.R. **Avaliação do emprego do café torrado como aromatizante na produção de cervejas**. 2015. 115 p. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**, Curitiba: Editora Champagat, 1996.122p.

EATON, B. An Overview of brewing. In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. Cap. 3, p. 77-89.

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

EUMANN, M. Water in Brewing. In: Bamforth, C.W. **Brewing: New Technologies**, Cambridge: Woodhead Publishing, 2006. cap. 9, p. 183-207.

FORSSELL, P., KONTKANEN, H., SCHOLS, H. A., HINZ, S., EIJSINK, V. G., TREIMO, J. & BUCHERT, J. Hydrolysis of brewers' spent grain by carbohydrate degrading enzymes. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 144, n. 4, p. 306-314, 2008.

FRANCESCO, G.; FREEMAN, G., LEE, E., MARCONI, O. AND PERRETTI, G. Effects of Operating Conditions during Low-Alcohol Beer Production by Osmotic Distillation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 62, p. 3279-3286, 2014.

FRANCESCO, G., TURCHETTI, B., SILEONI, V., MARCONI, O., & PERRETTI, G. Screening of new strains of *Saccharomyces ludwigii* and *Zygosaccharomyces rouxii* to produce low-alcohol beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 121, n. 1, p. 113-121, 2015.

GHISELLI, A., NATELLA, F., GUIDI, A., MONTANARI, L., FANTOZZI, P., & SCACCINI, C. Beer increases plasma antioxidant capacity in humans. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 11, n. 2, p. 76-80, 2000.

GONÇALVES, P., RODRIGUES DE SOUSA, H., AND SPENCER-MARTINS, I. FSY1, a novel gene encoding a specific fructose/H(+) symporter in the type strain of *Saccharomyces carlsbergensis*. **J. Bacteriol.**, v. 182, p. 5628–5630, 2000.

GUPTA, M., ABU-GHANNAM, N., & GALLAGHAR, E. Barley for Brewing: Characteristic Changes during Malting, Brewing and Applications of its By-Products. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 9, n. 3, p. 318-328, 2010.

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 da Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

HERRMANN, M., KLOTZBÜCHER, B., WURZBACHER, M., HANKE, S., KATTEIN, U., BACK, W. AND KROTTENTHALER, M. A new validation of relevant substances for the evaluation of beer aging depending on the employed boiling system. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 116, n.1, p. 41-48, 2010.

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

INNES, G. Cost-effectiveness of beer versus red wine for the prevention of symptomatic coronary artery disease. **Canadian Medical Association Journal**, v. 159, p. 1463-1466, 1998.

LEHNERT, R.; NOVAK, P.; MACIEIRA, F.; KUREC, M.; TEIXEIRA, J. A.; BRANYIK, T. Optimisation of lab-scale continuous alcohol-free beer production. **Czech J. Food Sci**, v. 27, p. 267-275, 2009.

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.

LEKKAS, C., STEWART, G. G., HILL, A. E., TAIDI, B., & HODGSON, J. Elucidation of the role of nitrogenous wort components in yeast fermentation. **Journal of the Institute of Brewing**, v.113, n. 1, p. 3-8, 2007.

KADO H, ISHII S, TAKOI K, MITANI Y, SHINOTSUKA K. Effects of spent grains or their extract on yeast performance. **MBAA Tech Q**, v. 36, p. 187-190, 1999.

KAVANAGH, T.E., CLARKE, B.J., GEE, P.S., MILES, M., NICHOLSON, B.N. Volatile flavor compounds in low alcohol beers. **Technical Quarterly – Master Brewers Association of the Americas**, v. 28, n. 3, p. 111-118, 1991.

KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Quimica nova**, v. 23, n.1, p. 108-112, 2000.

KOERNER, R. Returning aroma compounds removed during termal dealcoholization of beverages (written in Spanish). **European Patent**, 1996. 0 713 911 A2.

KONDO, K. Preventive effects of dietary beer on lifestyle-related diseases. **EBC Proc.**, Dublin, n. 1, p.133, 2003.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**, Int ed. VLB Berlin, Berlin, 1996. p. 190–224.

MARDEGAN, S.F., ANDRADE, T.M.M., SOUSA NETO, E.R., VASCONCELOS, E.B.C., MARTINS, L.F.B., MENDONÇA, A, T.G., MARTINELLI, L.A. Stable carbon isotopic composition of Brazilian beers – a comparison between large- and small-scale breweries. **J. Food Compos.**, v.29, p. 52-57, 2013.

MATHIAS, T. R. D. S., ALEXANDRE, V. M. F., CAMMAROTA, M. C., MELLO, P. P. M., & SÉRVULO, E. F. C. Characterization and determination of brewer's solid wastes composition. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 121, n.3, p. 400-404, 2015.

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: XVII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS. 2 a 5 de Agosto de 2009. Natal/RN.

MEUSSDOERFFER, F.G. A comprehensive history of beer brewing. In: Esslinger, H.M. (Ed.), **Handbook of Brewing**. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, 2009. p. 1–42.

MONTANARI, L., MARCONI, O., MAYER, H., FANTOZZI, P. Production of alcohol-free beer. In: Preedy, V.R. (Ed.), **Beer in Health and Disease Prevention**. Elsevier Inc., Burlington, MA, 2009. p. 61-75.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. São Paulo: Larousse do Brasil, 2009. 357p.

MUKAMAL, K.J., RIMM, E.B. Alcohol consumption: risks and benefits. **Current Atherosclerosis Reports**, v.10, n. 6, p. 536-543, 2008.

MULLER, R. The production of low-alcohol and alcohol-free beers by limited fermentations. **Ferment**, v. 3, n.1, p. 224-230, 1990.

MULLER, R. The effects of mashing temperature and mash thickness on wort carbohydrate composition. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 97, n. 2, p. 85-92, 1991.

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

MUSSATTO S.I., DRAGONE G, ROBERTO I.C. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential application. **J Cereal Sci**, v. 43, p. 1-14, 2006.

NARVÁTIL, M., DÖMÉNY, Z., ŠTURDÍK, E., ŠMOGROVICĚOVÁ, D., GEMEINER, P. Production of non-alcoholic beer using free and immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* deficient in the tricarboxylic acid cycle. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 35, n.2, p. 133-140, 2002.

NARZISS, L., BACK, W., STICH, S. Alcohol removal from beer by counter current distillation in combination with rectification (written in German). **Brauwelt**, v. 133, n. 38, p. 1806-1820, 1993.

NEVOIGT, E., PILGER, R., MAST-GERLACH, E., SCHMIDT, U., FREIHAMMER, S., ESCHENBRENNER, M., GARBE, L., STAHL, U. Genetic engineering of brewing yeast to reduce the content of ethanol in beer. **FEMS Yeast Research**, v. 2, n.2, p. 225-232, 2002.

PALMER, G.H. Barley and Malt. In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of Brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. Cap. 5, p. 139-159.

PERPÈTE P. AND COLLIN S. Influence of beer ethanol content on the wort flavour perception . **Food Chemistry** , v. 71, p. 379-385, 2000.

PETKOVSKA, M.; LESKOSEK, I.; NEDOVIC, V. Analysis of mass transfer in beer diafiltration with cellulose-based and polysulfone membranes. **Institution of Chemical Engineers**, v. 75, n. 4, p. 247–252, 1997.

PUGH, T. A., MAURER, J. M., AND PRINGLE, A. T. The impact of wort nitrogen limitation on yeast fermentation performance and diacetyl. **Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.**, v. 34, p. 185-189, 1997.

REGAN, J. Production of alcohol-free and low alcohol beers by vacuum distillation and dialysis. **Ferment**, v. 3, n. 4, p. 235-237, 1990.

ROBERTS, T.R.; WILSON, R.J.H. Hops. In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of Brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. Cap 7, p. 181-278.

ROBERTSON, J. A., I'ANSON, K. J., TREIMO, J., FAULDS, C. B., BROCKLEHURST, T. F., EIJSINK, V. G., & WALDRON, K. W. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 890-896, 2010.

RUSSEL, I. Yeast. In: HARDWICK, W. A. ed. **Handbook of brewing**. New York: Marcel Dekker, 2006. 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, M. C. **Utilização de alta pressão para aumentar o teor de xanto-humol no mosto de cerveja**. 2009.83f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Química dos Alimentos) - Departamento de Química da Universidade de Aveiro, 2009.

SELECKY, R., ŠMOGROVICĚOVÁ, D., SULO, P. Beer with reduced ethanol content produced using *Saccharomyces cerevisiae* yeasts deficient in various tricarboxylic acid cycle enzymes. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 114, n. 2, p. 97-101, 2008.

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

SHARPE, F. R., AND LAWS, D. R. J. The essential oil of hops – A review. **J. Inst. Brew.**, v. 87, p. 96-107, 1981.

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.

SICARD, D.; LEGRAS, J. Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex. **Comptes rendus biologiques**, v. 334, n. 3, p. 229-236, 2011.

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, D.P., BRÁNYIK, T., TEIXEIRA, J.A., ALMEIDA E SILVA, J.B. Alcohol-free beer (written in Portuguese). In: Venturini Filho, W.G. (Ed.), **Bebidas Alcoólicas: ciência e tecnologia**, vol.1. Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 2010. pp. 69–83.

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.

STEIN, W. Dealcoholization of beer. **Technical Quarterly – Master brewers association of the americas**, v. 30, n. 2, p. 54-57, 1993.

STELLA, R., BARISCI, J. N., SERRA, G., WALLACE, G. G., & DE ROSSI, D. Characterisation of olive oil by an electronic nose based on conducting polymer sensors. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 63, n. 1, p. 1-9, 2000.

STREJC, J., SIŘÍŠŤOVÁ, L., KARABÍN, M., ALMEIDA E SILVA, J. B., & BRÁNYIK, T. Production of alcohol-free beer with elevated amounts of flavouring compounds using lager yeast mutants. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 119, n. 3, p. 149-155, 2013.

STEWART, G.; HILL, E.; RUSSELL, I. 125th anniversary review: developments in brewing and distilling yeast strains. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 119, n. 4, p. 202-220, 2013.

SOHRABVANDI, S., MORTAZAVIAN, A.M., REZAEI, K. Health-Related Aspects of Beer: A Review. **International Journal of Food Properties**, v. 15, n. 2, p. 350-373, 2012.

SOHRABVANDI, S.; MOUSAVI, S.; RAZAVI, S.; MORTAZAVIAN, A.; REZAEI, K. Alcohol-free beer: Methods of production, sensorial defects, and healthful effects. **Food Rev. Int.**, v. 26, p. 335-352, 2010.

SOHRABVANDI, S.; MUOSAVI, S.M.; RAZAVI, S.H.; MORTAZAVIAN, A.M. Viability of probiotics bacteria in low- and non-alcoholic beer during refrigerated storage. **Philippine Agricultural Scientist**, v. 93, p. 24-28, 2010.

TAYLOR, D.G. Water. In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. Cap 4, p. 93-135.

TEIXEIRA, L.V. Análise Sensorial na Indústria de Alimentos. **Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"**, Jan/Fev. n. 366, 64: 12-21, 2009.

TSCHOPE, E.C. **Microcervejarias e cervejarias**. A História, a Arte e a Tecnologia. São Paulo: Editora Aden, 2001. 223p.

VAN IERSEL, M.F.M., MEERSMAN, E., SWINKELS, W., ABEE, T., ROMBOUTS, F.M. Continuous production of non-alcohol beer by immobilized yeast at low temperature. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 14, p. 495-500, 1995.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas**: ciência e tecnologia. São Paulo, Edgard Blucher, 2010. 70p.

APÊNDICE A

Cálculos para produção dos mostos

Os cálculos de malte, bagaço de malte e água foram realizados segundo Daniels (2000). Considerou-se uma eficiência de 75% para processo na escala de bancada. A quantidade de extrato necessária para obter um mosto teórico com 5°P foi calculada da seguinte forma:

$$Ext = \frac{Vm \times Cm}{Ef} \quad (1)$$

Onde:

Ext = Quantidade de extrato necessário (kg).

Vm = Volume de mosto a ser elaborado (hL).

Cm = Concentração de açúcares desejada para o mosto (kg/hL).

Ef = Eficiência do processo.

Para o cálculo da quantidade de malte no mosto puro malte e malte e bagaço nos mostos 25/75, 50/50 e 75/25 (bagaço:malte), levou-se em consideração suas porcentagens na formulação e o teor de umidade presente no bagaço de malte (80%). Para o malte *pilsen* utilizado considerou-se 75% de rendimento. Os cálculos foram feitos da seguinte forma:

$$\text{Malte (kg)} = \frac{Ext \times \% \text{ malte}}{Rm} \quad (2)$$

Onde:

Ext = Quantidade de extrato necessário (kg), calculado anteriormente na equação (1)

% malte = porcentagem de malte na formulação

Rm = rendimento do malte (%)

Para a produção de 3 L do mosto puro malte foram utilizados 0,270 kg de malte.

Para a produção de 3 L do mosto 25/75 foram utilizados 0,204 kg de malte e 0,340 kg de bagaço de malte.

Para a produção de 3 L do mosto 50/50 foram utilizados 0,136 kg de malte e 0,680 kg de bagaço.

Para a produção de 3L do mosto 75/25 foram utilizados 0,07 kg de malte e 1,02 kg de bagaço.

A quantidade de água primária tanto para o mosto puro malte quanto para os mostos com bagaço de malte foi a mesma e considerou-se a proporção 2,5:1 (kg de água por kg de malte) em relação a cerveja puro malte. Sendo assim, a quantidade de água utilizada para a fabricação dos diferentes mostos foi de 0,675 L.