UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

DIOGO HENRIQUE HENDGES

Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto

LORENA
2014

DIOGO HENRIQUE HENDGES

Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto

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

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

Edição reimpressa e corrigida

LORENA

Agosto - 2014

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.

Catalogação na Publicação
Biblioteca "Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite"
Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Hendges, Diogo Henrique
Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto. / Diogo Henrique Hendges. - ed. reimpr., corr.– 2014.
93p. : il.

Tese (Doutor em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2014.
Orientador: João Batista de Almeida e Silva

1. Cerveja 2. Malte 3. Adjunto 4. Quinoa 5. Leveduras. I. Título. II. Silva, João Batista de Almeida e, orient.

663.422 - CDU

A minha esposa Ana, pelo amor e pela espera. Aos meus pais Veleda e Moacir, pelo incentivo e pelo suporte, desde sempre. Ao meu irmão Williann, pelo exemplo de dedicação aos estudos.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela força maior que me move e me faz perseverar frente aos desafios que me são colocados.

A minha esposa Ana, que é meu propósito de vida, dedicação, amor, carinho, paciência...

Aos meus pais, que sempre foram o suporte e o incentivo e o exemplo na busca de uma vida idônea e de trabalho, mostrando o esforço é o caminho para o sucesso.

Ao meu irmão Williann, que sempre foi meu exemplo de dedicação e disciplina nos estudos, e a sua família, Alexandra e Maria Valentina, pelo apoio e momentos de convivência.

A família de minha esposa Ana, pelos momentos de descanso.

Aos familiares e aos amigos, pelo incentivo.

Aos mestres Lucio e Ricardo Bertoncello, por me apresentarem o mundo da cerveja e por todos os conhecimentos divididos.

A Escola de Engenharia de Lorena, da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do doutorado.

Ao Prof. Dr. João Batista de Almeida e Silva, pela oportunidade de realização deste trabalho, orientação, parceria, amizade, ensinamentos e momentos de convivência.

A minhas duas famílias em Lorena, Dona Gilda, Seu Luiz, Lívia e João Paulo, e Dona Ju, Maria de Fátima, Maria Cândida, Théo, Laura, Pedro, Rô e Gabi, pela amizade, carinho e atenção durante todo tempo que estive em Lorena. Sem vocês nada teria sido tão maravilhoso quanto foi. Podemos até perder o contato, mas jamais me esquecerei de vocês, que estarão sempre em meu coração.

Ao Prof. Dr. Ismael Mancilha, pela amizade e ensinamentos no decorrer desta caminhada.

Aos mestres e amigos Raul e Orerves, pela amizade e ensinamentos, exemplos de humildade, dedicação e amor ao mundo da cerveja.

Aos amigos da cervejaria, Valdir, Orerves, Raquel Aizemberg, Raquel Almeida, Rodrigo, Bárbara, Larissa, Marina, Cláudia, Jéssica, Giovanni, Ricardo, André, Natália, Caroline, pela convivência ao longo desta caminhada, conhecimentos trocados e amizade.

Aos amigos do Debiq, Cláudio, Flávio, Daniel, Aline, Juan, Moysés, João Paulo, Lívia, Isabela Ferreira e Isabela Zeferino, Daniela, Bruno, Túlio, Rafael, Bárbara, Joseana, Luciane, Paula, Celso, Felipe, Germano, Ivy, Bruna, Felipe, Wagner, Fabrício, Bárbara,

Naila, Patrícia, Bruno, Fernanda, Rafael, Omar, Dayelle, Ana Paula, Fernanda, Vitor, Erlon, Levi, Larissa, Mayara, Tales, Ludmila, João Tavares, Tati, Priscila, André Silva, Zé Cobrinha, Nicanor, Rita, Paulinho, Zé Moreira, Nadia, Walquíria, Isnaldi, André Prado, Djalma, Marco, e todos os outros que eu tenha esquecido, obrigado pelos churrascos, conversas, discussões, cafés, risadas. A caminhada ao vosso lado foi fantástica.

As meninas da CPG, Bia, Cida e Sandra, pela amizade, carinho, conversas e disposição em todos os momentos que necessitei de sua ajuda.

Aos professores do Debiq, André, João, Ismael, Inês, Graça, Bernadete, Márcio, Adriane, Walter, Adilson, Silvio, pelos ensinamentos e amizade.

Aos professores do Demar, Durval e Paulo, pelas análises e pelos ensinamentos.

A André, Isnaldi, André, Walquíria e Nádia, pela pronta atenção em todos os momentos que necessitei de sua ajuda.

A todos os funcionários da oficina da Escola de Engenharia de Lorena, que sempre estavam a disposição para solução de problemas técnicos.

Aos funcionários da biblioteca, pela atenção e ajuda prestada.

Ao amigo Ricardo, pela parceria e mecânica de plantão.

A CAPES, pela bolsa de estudos.

A Malteria do Vale e Rosana Ferrari, pela doação de maltes e pelas análises realizadas.

A Wallerstein Ltda. pela doação de lúpulos.

“Nenhum homem realmente produtivo pensa
como se estivesse escrevendo uma dissertação.”

Albert Einstein

RESUMO

HENDGES, D. H. **Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto.** 2014. 93p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

A legislação brasileira permite a substituição parcial do malte de cevada por adjuntos, malteados ou não, para produção de cervejas. Esses adjuntos proporcionam redução de custos de produção e a obtenção de bebidas com diferentes características sensoriais. A proposta deste trabalho foi a de produzir uma bebida com teor reduzido de etanol, utilizando quinoa malteada como adjunto. Foram avaliadas três linhagens de levedura, duas comerciais, S-23 e W-3470 (Fermentis – França) e uma do banco de cepas da Escola de Engenharia de Lorena (EEL), classificada como PPB-01. Avaliou-se o rendimento em etanol, visando a produção de bebidas com teor reduzido de etanol, obtendo-se rendimentos semelhantes em álcool, 0,37, 0,35 e 0,39 g/g, para as cepas S-23, W-3470 e PPB-01, respectivamente. Utilizou-se o processo de mosturação por infusão simples, a 72ºC, sendo comparado à condição padrão, na qual utilizou-se temperaturas de 52ºC, 62ºC, 72ºC, obtendo-se rendimentos em etanol de 0,40, 0,41 e 0,40 g/g, para S-23, W-3470 e PPB-01, respectivamente. A linhagem S-23 foi escolhida para prosseguir nos estudos, devido ao menor tempo de fermentação, 108 horas, na produção de bebidas com teor reduzido de etanol, comparado com as demais linhagens cujo tempo de fermentação foi de 116 horas. A quinoa foi malteada, sendo observada germinação de apenas 60%, o que pode ter dificultado a filtração e clarificação de mostos. Com isso, necessitou-se alterar a condição de mosturação, de infusão simples para mosturação de dois passos, utilizando-se as temperaturas de 52ºC e 72ºC. Nesta condição de mosturação, os fatores de rendimento em etanol foram de 0,38, 0,36, 0,36, 0,37 g/g, na fermentação de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto, nas proporções de 10%, 20%, 30% e 45% em massa, respectivamente, semelhante aquele rendimento observado na fermentação de mosto puro malte, 0,37g/g. O tempo de fermentação de mosto puro malte foi reduzido de para 132 para 88 horas de fermentação de mosto contendo quinoa malteada na proporção de 45%. O teor inicial de aminoácidos livres pode ter afetado o tempo de fermentação, observando-se teores de 133mg/L no mosto puro malte, e 141, 148, 152 e 177mg/L nos mostos contendo quinoa malteada como adjunto, nas proporções de 10%, 20%, 30% e 45% em massa, respectivamente. Na avaliação sensorial das diferentes bebidas obtidas,

constatou-se que a aceitação foi semelhante para todas as amostras, quando comparadas a uma amostra de cerveja comercial, com notas compreendidas entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. A estabilidade da espuma atingiu 155 Sigma para a amostra puro malte sendo fortemente afetada quando quinoa malteada foi utilizada como adjunto, nas proporções de 10%, 20%, 30% e 45% em massa, sendo que o valor Sigma foi de 104, 69, 44 e 6, respectivamente, e 128 Sigma para amostra comercial. A fermentação do mosto em escala piloto contendo 45% em massa de quinoa malteada, como adjunto, foi avaliada, verificando-se que as características pH, atenuação, número de células em suspensão e de rendimento em etanol (0,39g/g) foram semelhantes às demais condições de bancada avaliadas, tanto para avaliação de diferentes leveduras ou condições de mosturação, quanto para substituição de malte por quinoa malteada.

Palavras-chave: Malte. Adjunto. Quinoa. Levedura. Cerveja. Etanol.

ABSTRACT

HENDGES, D. H. **Beer production with reduced ethanol content, containing malted quinoa as adjunct.** 2014. 93p. Thesis (Doctoral of Science) – Engineering School of Lorena, São Paulo University, 2014.

Brazilian law allows substitution of barley malt by adjuncts, malted or not, to produce beers. These adjuncts provide a reduction of production costs and obtaining beverages with different sensory characteristics. This work aimed to produce a drink with reduced ethanol content using malted quinoa as adjunct. Three yeast strains were evaluated, S-23 and W-3470, commercials (Fermentis - France) and PPB-01 from the yeasts bank of Engineering School of Lorena (EEL), regarding to ethanol yield, being observed in similar yields ethanol, 0.37, 0.35 and 0.39 g / g for the strains S-23, W-3470 and PPB-01, respectively, by mashing a simple infusion, at 72°C, compared to the control condition, by mashing with temperatures 52ºC, 62ºC, 72ºC, obtaining ethanol yields 0.40, 0.41 and 0.40g/g for S-23, W-3470 and PPB-01, respectively. The S-23 strain was chosen for the studies below, since the fermentation time was slightly lower, 108 hours, for production of beverages with reduced ethanol content, compared to other processes 116 hours for W-3470 and PPB-01 strains. The quinoa was malted for transformation of the grain, germination of only 60% was observed under the conditions evaluated, which may have hindered the filtration and clarification of worts, even mashing condition having been changed from simple infusion mashing for the two steps, using temperatures of 52ºC and 72ºC , observing ethanol yields of 0.38 , 0.36 , 0.36 , 0.37g/g, produced in the fermentation of worts containing malted quinoa as adjunct in proportions of 10%, 20%, 30% and 45% by weight, respectively, similar to that observed in fermentation yield of pure malt wort, 0.37 g/g. The fermentation time was reduced from132 hours, pure malt wort, to 88 hours, malted quinoa wort in a proportion of 45%. The initial content of free amino acids, may have affected the fermentation time, concentration of 133mg/L were observed in pure malt wort, and 141, 148, 152 and 177mg/L in worts containing malted quinoa as adjunct in the proportions of 10%, 20%, 30% and 45% by mass , respectively. In the sensory evaluation of obtained beverages, pure malt, and containing malted quinoa as adjunct in different proportions, it was found that acceptance was similar for all samples, compared to a sample of commercial beer, with notes between "liked slightly" and "liked moderately". The stability of the foam 155 Sigma of pure malt sample was strongly affected when malted quinoa was

used as adjunct in the proportions of 10%, 20%, 30% and 45% by weight, being observed Sigma 104 , 69, 44 and 6, respectively compared to a commercial sample, Sigma 128. The fermentation of wort in a pilot scale containing 45% by weight of malted quinoa as adjunct, was evaluated by checking and characteristics such as pH, apparent attenuation and maximum number of suspension cells and ethanol yield (0.39 g/g) were similar to other conditions evaluated in bench scale.

Key-words: Malt. Adjunct. Quinoa. Yeast. Beer. Ethanol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo de maltagem da cevada. (A) Escala de tempo de maltagem: maceração (steeping), germinação (germination) e secagem (kilning). (B) Representação do processo de germinação da cevada e após secagem e extração da radícula. (C) Corte longitudinal de grão de cevada durante a maltagem e após secagem (Em: embrião; En: endosperma). Fonte: Gorzolka et al. 2012.....24
Figura 2 – Representação esquemática do corte longitudinal do grão de quinoa (E: endosperma, Pe: pericarpo, P: perisperma, R: radícula, F: funículo, C: cotilédones, T: testa). Fonte: Prego et al. (1998).....31
Figura 3 – Análise do mercado de quinoa em milhares de toneladas e milhares de hectares, no Peru, na última década. Fonte: Ministério da Agricultura do Peru, 2013.....32
Figura 4 – Molécula de α-ácido (humulona) em sua forma comum (superior) e isomerizada (inferiores) Fonte: Adaptado de Jaskula-Goiris et al. (2010).....36
Figura 5 – Representação gráfica de processo fermentativo de mosto cervejeiro. Fonte: Adaptado de MUNROE (2006).....38
Figura 6 – Fluxograma do processo de produção de cerveja. Adaptado de Dragone e Almeida e Silva (2010).....38
Figura 7 – Processo de maceração da quinoa.....46
Figura 8 – Separação da radícula e do grão de malte de quinoa, por atrito.....47
Figura 9 – Teste de germinação para produção de malte de quinoa (C: controle; S: sensibilidade à água).....48
Figura 10 – Fluxograma de produção de cerveja. Adaptado de Dragone e Almeida e Silva (2010).....49
Figura 11 – Esquema da produção de mostos em escala de bancada de até 10 litros. (A) Água quente, (B - *Boil*) Ferfura, (M) Mosturação, clarificação e filtração, (R) Resfriamento, (F) Fermentação e Maturação. 50
Figura 12 – Funil de espuma. Fonte: ASBC (1996).....55
Figura 13 – Modelo de ficha para a realização do teste de aceitação das bebidas avaliadas. 57
Figura 14 – Planta piloto de 200 litros pertencente a Escola de Engenharia de Lorena.....58
Figura 15 – Perfil de fermentação de mosto cervejeiro, elaborado com mosturação por infusão simples, apresentado pela linhagem de levedura S-23. (●) Extrato Aparente (ºP); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH; (∗) Células em Suspensão (10^8/mL).....61
Figura 16 – Número de células em suspensão durante a fermentação de mostos cervejeiros obtidos sob condição controle (●) e infusão simples (■). 62
Figura 17 – Aspecto dos grãos de quinoa antes (esquerda) e após (direita) o processo de maceração. 63
Figura 18 – Teste de germinação da quinoa após 24 horas (S) Sensibilidade; (C) Controle. 63
Figura 19 – Corte dos grãos de quinoa antes (esquerda) e após (direita) a malteação. Parte em branco: perisperma.....64
Figura 20 – Microscopia Eletrônica de Varredura de grânulos de amido de quinoa não malteada (superior) e quinoa malteada (inferior). 65
Figura 21 – Perfil da fermentação de mosto puro malte elaborado sob condição de mosturação de dois passos. (●) Extrato Aparente (ºP); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH; (∗) Células em Suspensão (10^8/mL).....68

Figura 22 – Perfil de concentração de extrato aparente, observado na fermentação de mostos obtidos sob diferentes condições de mosturação. (■) Condição padrão; (●) Infusão simples; (▲) Mosturação de dois passos. 69
Figura 23 – Representação gráfica da atenuação aparente observada na fermentação de mostos obtidos sob diferentes condições de mosturação. (■) Condição controle; (●) Infusão simples; (▲) Mosturação de dois passos. 69
Figura 24 – Perfil de formação de etanol durante a fermentação de mostos elaborados sob condição de mosturação de dois passos, utilizando diferentes proporções de malte/quinoa malteada como adjunto. (∗) 100%/0%; (●) 90%/10%; (▲) 80%/20%; (■) 70%/30% e (+) 55%/45%.....71
Figura 25 – Análise de estabilidade de espuma (Sigma) de bebidas com diferentes proporções de Malte/Quinoa Malteada, comparadas à amostra de cerveja comercial. [a,b,c,d,e,f] Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de 5% de confiança, segundo teste de Tukey. 75
Figura 26 – Esquema da atuação de uma partícula hidrofóbica sobre o filme da bolha, causando o rompimento desse filme e comprometendo a estabilidade da espuma da cerveja. Fonte: adaptado de EVANS e BAMFORTH (2009).....76
Figura 27 – Aspecto das diferentes bebidas obtidas com diferentes proporções de malte/quinoa malteada, comparada a uma amostra comercial. Da esquerda para a direita: 100%/0%; 90%/10%; 70%/30% e 55%/45%.....78
Figura 28 – Perfil da fermentação em escala piloto de mosto elaborado contendo quinoa malteada em proporção de 45% em massa como adjunto. (●) Extrato Aparente (ºP); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH; (∗) Células em Suspensão (10^8/mL).....79
Figura 29 – Comparação da concentração de extrato aparente de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa, em escala de bancada (10L) (●) e escala piloto (200L) (■). 80
Figura 30 – Comparação da formação de etanol na fermentação de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa, em escala de bancada (10L) (●) e escala piloto (200L) (■). 81
Figura 31 – Comparação do perfil de pH na fermentação de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa, em escala de bancada (10L) (●) e escala piloto (200L) (■). 82
Figura 32 – Comparação do perfil do número de células em suspensão na fermentação de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa, em escala de bancada (10L) (●) e escala piloto (200L) (■). 83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características físico-químicas da água utilizada para produção de cervejas pela Microcervejaria da Escola de Engenharia de Lorena. 23
Tabela 2 – Composição química grãos de Quinoa..... 33
Tabela 3 – Comparação de alguns aminoácidos essenciais (mg aminoácido/g proteína) da proteína de quinoa, milho, trigo e arroz. 34
Tabela 4 – Composição química de lúpulo em flor. 36
Tabela 5 – Temperaturas de ação das enzimas presentes no malte de cevada. 39
Tabela 6 – Condição de mosturação padrão ou de três passos. 51
Tabela 7 – Condição de mosturação por infusão simples para produção de mosto com baixo teor de extrato fermentescível. 52
Tabela 8 – Composição da mistura de grãos para produção de mosto cervejeiro utilizando quinoa malteada como adjunto. 52
Tabela 9 – Teor de álcool produzido pelas diferentes leveduras avaliadas e seus respectivos rendimentos ($Y_{P/S}$) na fermentação de mosto obtido sob condição controle de mosturação. 59
Tabela 10 – Teor de álcool produzido pelas diferentes leveduras avaliadas e seus respectivos rendimentos ($Y_{P/S}$), na fermentação de mosto obtido sob condição alternativa de mosturação. 60
Tabela 11 – Teores (base seca) dos parâmetros avaliados na caracterização do malte de quinoa, comparados ao malte produzido pela Malteria do Vale..... 66
Tabela 12 – Adaptação da condição de mostura por infusão simples para mosturação de dois passos. 67
Tabela 13 – Parâmetros fermentativos de mostos puro malte elaborados sob diferentes condições de mosturação: Infusão Simples, Mosturação de Dois Passos (MDP) e Controle. 70
Tabela 14 – Teor de etanol e do pH observados ao final das fermentações de mostos elaborados com diferentes proporções de malte e quinoa malteada. 72
Tabela 15 – Tempo de fermentação dos diferentes mostos obtidos utilizando diferentes porporções (%m/m) de Malte/Quinoa Malteada. 72
Tabela 16 – Teor de aminoácidos livres (FAN) (mg/L) presentes em mostos elaborados com diferentes porporções (%m/m) de Malte/Quinoa Malteada. 73
Tabela 17 – Teores (base seca) dos parâmetros estimados com bases na caracterização realizada pela Malteria do Vale da quinoa malteada. 74
Tabela 18 – Notas de aceitação das diferentes bebidas obtidas, puro malte e com diferentes proporções de malte/quinoa malteada, comparadas a uma amostra de cerveja comercial produzida em massa. 77
Tabela 19 – Comparação dos parâmetros cinéticos das fermentações realizadas em escala de bancada e em escala piloto. 84

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **19**
2 REVISÃO DE LITERATURA **21**
2.1 Cerveja – Aspectos Históricos e de Mercado **21**
2.2 Legislação **21**
2.3 Matéria-Prima para Produção de Cerveja **22**
2.3.1 Água *22*
2.3.2 Malte *23*
2.3.2.1 Adjuntos *24*
2.3.2.2 Quinoa *30*
2.3.2.2.1 Produção e Mercado *31*
2.3.2.2.2 Importância Nutricional da Quinoa *33*
2.3.3 Lúpulo *35*
2.3.4 Levedura *37*
2.4 Produção de Cerveja **38**
2.5 Análise Sensorial **40**
3 OBJETIVOS **43**
3.1 Geral **43**
3.2 Específicos **43**
4 MATERIAL E MÉTODOS **45**
4.1 Matérias-primas e Insumos para Produção de Mostos Cervejeiros **45**
4.1.1 Água *45*
4.1.2 Quinoa e Malte de Cevada *45*
4.1.3 Lúpulo *45*
4.2 Leveduras **45**
4.3 Produção de Malte de Quinoa **46**
4.3.1 Porcentagem de germinação malte de quinoa *47*
4.3.2 Determinação da Umidade da Quinoa Malteada *48*
4.3.3 Determinação do pH da Quinoa Malteada *49*
4.4 Produção de Inóculo para Fermentação **49**
4.5 Produção de Mostos Cervejeiros **49**
4.5.1 Substituição Parcial do Malte por Quinoa Malteada na Produção de Mostos *52*

4.6 Fermentações **52**
4.7 Maturação **52**
4.8 Finalização da Bebida **53**
4.9 Métodos Analíticos **53**
4.9.1 Análises Físico-Químicas *53*
4.9.1.1 Teor de Aminoácidos Livres (FAN) *54*
4.9.2 Contagem de Células em Viáveis em Suspensão *54*
4.9.3 Determinação do Fator de Rendimento em Etanol ($Y_{P/S}$) *54*
4.9.4 Análise de Estabilidade da Espuma *55*
4.9.5 Análise Sensorial *56*
4.10 Produção em Escala Piloto **58**
4.11 Delineamento Estatístico **58**
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO **59**
5.1 Seleção de Linhagem de *Saccharomyces cerevisiae* **59**
5.2 Produção do Malte de Quinoa **62**
5.2.1 Caracterização Físico-Química do Malte de Quinoa *66*
5.3 Produção de Mostos Utilizando Quinoa Malteada como Adjunto **67**
5.4 Análise da Estabilidade de Espuma **74**
5.5 Análse Sensorial **76**
5.6 Produção em Escala Piloto **78**
5.7 Determinaçao de Parâmetros Cinéticos das Fermentações **84**
6 CONCLUSÕES **85**
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **87**

1 INTRODUÇÃO

Cerveja é uma bebida que vem sendo produzida há aproximadamente 7000 anos, tendo sido consumida para fins medicinais, bem como alimento, sendo atualmente muito utilizada como ingrediente na gastronomia.

O Brasil produziu mais de 13 bilhões de litros de cerveja em 2013, de acordo com dados do Sistema de Controle de Produção de Bebidas (2014). O mercado de cervejas com nenhum ou baixos teores de etanol aumentou significativamente, por volta de 50%, especialmente na Europa segundo Brányik et al. (2012).

A cerveja com baixo ou nenhum teor de etanol pode ser obtida de duas formas: por meio de remoção desse composto a partir de cervejas normais, utilizando-se de métodos de destilação, ou limitando-se sua formação durante a fermentação. Neste caso, utilizam-se técnicas adequadas durante a mosturação, que permitem menor liberação de açúcares fermentescíveis no mosto, ou removem-se as leveduras antes que o consumo de substrato seja total, durante a fermentação, ou ainda são criadas condições que restrinjam o metabolismo microbiano.

Outro aspecto relevante no mercado atual de cerveja é a substituição de malte por outros cereais maltados ou não, como arroz, aveia, sorgo, entre outros, bem como de pseudocereais malteados ou não, como o amaranto e a quinoa, para a produção de cervejas, que tem sido muito relatada atualmente.

A quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), um pseudocereal, é cultivada em países andinos, podendo adaptar-se a diferentes tipos de solo e clima. No Brasil, seu cultivo é feito no período de entressafra. Porém, a demanda brasileira deste produto é suprida por importação, pois a área plantada no Brasil ainda é pequena mas preços atrativos no mercado consumidor tem aumentado o interesse de produtores e indústria alimentícia.

A quinoa evidencia-se por sua composição química contendo antioxidantes, além de possuir elevados teores de aminoácidos essenciais, principalmente lisina, bem como fibras, vitaminas e minerais.

A Organização das Nações Unidas (ONU) propôs oficialmente 2013 como o Ano Internacional da Quinoa, alimento que pode desempenhar um papel importante na erradicação da fome, da desnutrição e da pobreza.

Apesar de a cerveja ser considerada um veículo de relaxamento e diversão, existem estudos que mostram que essa bebida possui substâncias que podem ser importantes para a saúde, como antioxidantes, flavonóides, entre outras.

Nesse contexto, este trabalho tem por objetivo o estudo da utilização de quinoa para produção de cerveja, bem como contribuir para o desenvolvimento de tecnologia para obtenção de produtos destinados à saúde.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cerveja – Aspectos Históricos e de Mercado

No início de sua história, a cerveja era obtida como uma atividade doméstica ou produzida em pequena escala comercial, sendo um elemento essencial da dieta de uma população essencialmente agrária. Sua origem é datada de aproximadamente 7000 anos a.C. e era considerada como um subproduto do desenvolvimento da agricultura. Os antigos egípcios fabricavam cerveja a partir do sorgo, cereal indígena, que ainda é parte integrante da política de vida tribal africana. O desenvolvimento histórico de produção de cerveja e da indústria cervejeira é, no entanto, ligada ao norte da Europa, onde as condições de frio intenso inibiram o desenvolvimento de vitivinicultura (ANDERSON, 2006).

Na antiguidade a cerveja era utilizada para diversos fins, como alimentação e funções medicinais como lavagem intestinal, aplicação em ferimentos, etc., sendo, nos últimos anos, muito utilizada na gastronomia (BAMFORTH, 2002).

O Brasil produziu mais de 13 bilhões de litros de cerveja em 2013, de acordo com dados do Sistema de Controle de Produção de Bebidas (2014). Com relação ao mercado de cervejas especiais, especificamente, em relação ao segmento de microcervejarias, estima-se que existam cerca de 200 microcervejarias, concentradas principalmente nas regiões sul e sudeste do Brasil, e que representam ainda menos de 1% do setor cervejeiro nacional. Esse segmento apresenta tendência de crescimento e deve atingir a 2% da fatia do mercado de cervejas em dez anos, motivada pela busca por parte dos consumidores de satisfação sensorial e favorecida pela melhoria na renda da população brasileira (Associação Brasileira de Bebidas, 2014).

Também se observa, nos últimos anos, o aumento no mercado de cervejas com nenhum ou baixos teores de etanol. Na Europa, as vendas desse produto aumentaram em 50%, tendo a Espanha como o país de maior consumo (BRÁNYIK et al. 2012).

2.2 Legislação

Segundo o Decreto nº. 6871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, Seção III, art. 36, cerveja é a bebida

obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo, podendo também serem utilizados além do malte de cevada, em menor ou igual escala, maltes de diferentes cereais, ou outros produtos considerados adjuntos, maltados ou não maltados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009).

A cerveja pode ser classificada de diferentes formas, de acordo com o art. 38 da legislação vigente (BRASIL, 2009), podendo-se destacar a quantidade de extrato primitivo, que determina a proporção de sólidos dissolvidos utilizados na produção de cervejas, que varia entre 5% m/m, para cervejas leves e acima de 14% m/m, para cervejas fortes. Também se destaca o teor de etanol na bebida, que pode variar de 0,5% v/v, para cervejas consideradas sem etanol, não havendo a necessidade de constar essa informação no rótulo da bebida, e acima desse teor, devendo-se obrigatoriamente estar declarado no rótulo que a bebida possui etanol e sua composição.

2.3 Matéria-Prima para Produção de Cerveja

A cerveja é uma solução aquosa complexa, contendo além de dióxido de carbono e etanol, centenas de compostos orgânicos. É produzida a partir de água, malte e lúpulo e fermentada por levedura (CARVALHO et al. 2005).

2.3.1 Água

De acordo com Taylor (2006), a água é o ingrediente encontrado em maior proporção na cerveja, correspondendo a mais de 90% do produto final, e é considerada diretamente como um ingrediente, necessitando tratamento para ser utilizado no processo, caso alguns de seus atributos como dureza e pH possam afetar a qualidade da bebida.

Aizemberg e Almeida e Silva (2012) avaliaram a água utilizada na Planta Piloto de Bebidas da Escola de Engenharia de Lorena (Tabela 1) e definiram esta água como adequada para produção de cervejas do estilo Pilsen, devido a sua característica de baixa dureza.

Tabela 1 – Características físico-químicas da água utilizada para produção de cervejas pela Microcervejaria da Escola de Engenharia de Lorena.

Parâmetros	Valores Observados
pH	6,66
Odor	Inodora
Sabor	Livre de sabor
Aspecto	Límpida
Turbidez	0,54 UNT
Cor	< 5 mgPt/L
Dureza Total	26 mg/L $CaCO_3$
Cloretos	1,2 mg/L
Magnésio	0,935 mg/L
Zinco	5,28 mg/L
Nitrato	0,19 mg/L
Ferro	0,055 mg/L

Fonte: Aizemberg e Almeida e Silva (2012)

2.3.2 Malte

O malte é obtido pela germinação das sementes de cevada e utilizado na fabricação de cervejas, uísques, produtos de panificação e outros alimentos (VENTURINI FILHO; CEREDA, 2001). Para Kunze (1996), a maltagem é um processo que visa ativar as enzimas necessárias para a hidrólise dos grãos de amido contidos no cereal.

De acordo com Cruz (2007), este processo é constituído por três etapas: 1) maceração, quando o grão é submerso em água para absorção de umidade necessária para germinação (cerca 40%); 2) germinação, quando o hormônio de crescimento ácido giberélico é liberado, ativando o complexo enzimático responsável pela degradação de polímeros em compostos essenciais ao crescimento da planta; 3) secagem, quando o teor de umidade é reduzido a teores de aproximadamente 5%, interrompendo as atividades das enzimas presentes no grão.

A Figura 1 apresenta as diferentes fases do processo de maltagem da cevada (GORZOLKA et al. 2012).

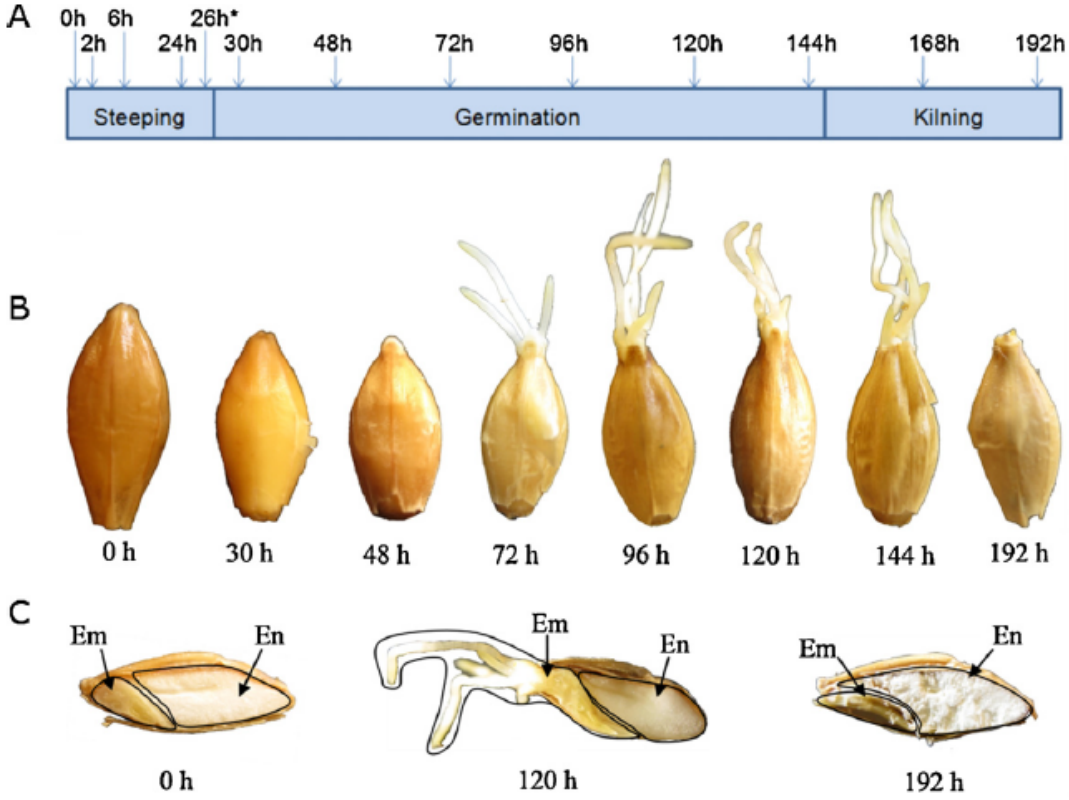

Figura 1 - Processo de maltagem da cevada. (A) Escala de tempo de maltagem: maceração (steeping), germinação (germination) e secagem (kilning). (B) Representação do processo de germinação da cevada e após secagem e extração da radícula. (C) Corte longitudinal de grão de cevada durante a maltagem e após secagem (Em: embrião; En: endosperma). Fonte: Gorzolka et al. 2012.

De acordo com Gupta et al. (2010) a cevada é considerada a matéria prima ótima para produção de malte, devido a sua composição química, rica em carboidratos, proteínas, fibras, minerais e vitaminas e por apresentar eficiência econômica no processo de produção de cerveja, devido ao seu poder diastásico e bom aproveitamento dos compostos presentes no grão.

2.3.2.1 Adjuntos

Parte do malte de cevada pode ser substituída por outros cereais, maltados ou não, como arroz, milho, trigo, aveia, centeio ou sorgo, considerados adjuntos. No entanto, para ser denominada cerveja, é necessário que a bebida possua proporção de malte de cevada maior ou igual a 50%, em massa, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares (SIQUEIRA, BOLINI e MACEDO, 2008).

Adjuntos amiláceos podem ser utilizados na elaboração de cervejas, com o objetivo de aumentar o rendimento em extrato, de melhorar a estabilidade da bebida e também de reduzir custos de produção (VENTURINI FILHO, 2000; AGU, 2002) e os adjuntos líquidos, dentre os quais o principal é o xarope de maltose de milho (HMCS), possuem preços competitivos (SLEIMAN, 2006). O uso do adjunto na cerveja resulta em um produto com alta estabilidade física, melhor resistência ao resfriamento e maior brilho. A maior estabilidade física se deve ao fato de que os adjuntos contribuem muito pouco com material protéico para o mosto e a cerveja, o que é vantajoso em termos de estabilidade coloidal. Adjuntos à base de arroz e milho praticamente não contribuem com proteínas solúveis para o mosto, enquanto outros adjuntos, como cevada não malteada ou trigo possuem altos teores de proteínas solúveis. Com exceção da cevada, os adjuntos têm pequena contribuição no incremento de compostos fenólicos (BOTELHO, 2009).

Cervejas com adjunto em sua composição são mais leves, atendendo melhor às necessidades do mercado consumidor brasileiro. Cada empresa define a proporção de malte e de adjunto em seus produtos, conforme lhe convém, seguindo uma tendência mundial de aumento de adjuntos por parte das cervejarias. Entretanto, seu uso abusivo poderia resultar em cerveja pouco encorpada e com má qualidade de espuma (SLEIMAN, 2006).

A utilização de adjuntos na fabricação de cervejas é permitida por lei em vários países, e são vários os tipos de matérias-primas e aditivos autorizados (ENGLMANN; MIEDANER, 2005).

Segundo Sohrabvandi et al. (2010), o malte pode ser substituído parcialmente por grãos de outros cereais, como milho e arroz, açúcares de outras fontes vegetais, entre outros. Essa substituição, em diferentes proporções, por outros cereais considerados adjuntos, maltados ou não, como arroz, aveia, sorgo, também foi relatada por Ceppi e Brenna (2010), Meo et al. (2011) e Klose et al. (2011). A substituição de malte por pseudocereais, como trigo sarraceno, amaranto, quinoa, entre outros, para a produção de cervejas livres de glúten, também tem sido relatada (WIJNGAARD; ARENDT, 2006; MEO et al. 2011).

Os adjuntos amiláceos podem ser divididos em três classes: 1) aqueles que podem ser mosturados sem pré-cozimento, como a farinha de trigo; 2) aqueles que necessitam de pré-cozimento antes do início da mosturação, como os flocos de milho; 3) aqueles que obrigatoriamente passam por processo de cozimento como parte do programa de mosturação, tais como quirera de milho, arroz e sorgo (BRIGGS et al. 2004).

De acordo com Bradee et al. (2002), os adjuntos mais empregados são derivados de cereais como milho, arroz, trigo, cevada, sorgo, etc. Fumi et al. (2010) cita o milho como o cereal mais amplamente empregado na produção de cervejas. Esses adjuntos podem ser denominados como convencionais.

Agu (2002), na comparação com a condição padrão de ensaio, a qual utilizou puro malte, avaliou a substituição deste por sorgo, milho e cevada, todos não maltados, em proporções de 5% e 20% em massa, na produção de cervejas. O autor verificou que a eficiência de recuperação do extrato foi semelhante quando os diferentes adjuntos, sorgo, milho e cevada foram utilizados, na proporção de 5%. Quando a proporção de adjunto foi aumentada para 20%, foi observado decréscimo na recuperação de extrato para os cereais sorgo e milho, enquanto para a cevada a recuperação foi semelhante à condição puro malte. O autor também verificou que a liberação de aminoácidos livres (FAN) foi menor para todas as proporções de todos os grãos, comparada a condição na qual o mosto puro malte foi utilizado. Entre os adjuntos avaliados, o sorgo proporcionou maior liberação de FAN, em ambas as proporções, 5% e 20%. O autor sugere que, mesmo o milho sendo o adjunto mais amplamente empregado na indústria cervejeira, o sorgo tem potencial de aplicação tecnológica, devido a elevada solubilização de peptídeos e aminoácidos no mosto elaborado com esse grão.

Good e Arendt (2003) estudaram a produção de cerveja contendo sorgo não maltado como adjunto, na proporção de 50% em massa, tendo realizado pré-cozimento do sorgo, em temperaturas de 50°C e 95°C, por 60 e 40 minutos, respectivamente, com auxílio de enzimas exógenas como protease e amilase. Após esse tratamento a mistura obtida foi resfriada para 60°C, sendo então adicionada uma nova carga enzimática, seguindo-se, então, normalmente a mosturação, na mistura com malte, utilizando temperaturas de 60°C e 78°C, por 30 e 10 minutos respectivamente, para finalização do processo. Para o ensaio padrão, no qual apenas o malte foi utilizado, foram aplicadas temperaturas de 50°C, 63°C, 75°C e 78°C, por 30, 60, 10 e 5 minutos, respectivamente, porém sem adição de enzimas exógenas.

Good e Arendt (2003) ainda observaram que o amido não foi completamente hidrolisado até o fim do pré-tratamento a 95°C, tendo associado isso a inadequada gelatinização e sugeriram que essa hidrólise incompleta pode ser devido a inativação da α-amilase presente no grão. Apesar dessa dificuldade observada, o processo de clarificação e de filtração desse mosto teve comportamento semelhante àquele observado quando apenas malte foi utilizado, a recuperação de extrato no processo em que sorgo foi utilizado, foi

menor, 72% de eficiência, quando comparado ao processo realizado com mosto puro malte, que teve 78% de eficiência. Isso pode ser devido a maior formação de "*trub*" (coagulação de complexos polifenóis-proteínas) neste processo, durante o pré-tratamento do grão, enquanto para o ensaio controle, com o mosto puro malte, a formação de *"trub"* foi observada apenas durante a fervura. Com relação a liberação de FAN no mosto, constatou-se que as concentrações de aminoácidos no mosto obtido com sorgo como adjunto foram semelhantes àquelas obtidas no ensaio controle. Após o processo de fermentação e finalização da bebida elaborada com sorgo como adjunto, os pesquisadores observaram que as características como atenuação aparente, produção de etanol, valor de pH, cor, viscosidade, entre outras, foram semelhantes àquelas observadas na cerveja obtida sob condição padrão de ensaio, citada anteriormente.

Ainda com relação aos adjuntos convencionais, tem se observado a tendência de utilização de outros cereais maltados, para a produção de cervejas.

Ceppi e Brenna (2010) avaliaram o emprego de arroz maltado na produção de cerveja, utilizando processo de mosturação por simples infusão ou com decocção, utilizando temperaturas de 52°C, 63°C, 72°C, 75°C e 77°C, por 10, 50, 60, 20 e 5 minutos, respectivamente. A decocção consiste na fervura de parte da mistura de grãos e água, sendo posteriormente retornada para a mistura principal, para continuação do processo de infusão. Os autores observaram que, para ambos os processos de mosturação, a sacarificação ficou comprometida, constatando que o amido não foi completamente hidrolisado, o que afetou a clarificação e filtração do mosto. Com isso, a eficiência na recuperação de extrato foi fortemente afetada, constatando-se perda de aproximadamente 25% do extrato, o que acarretou em redução da fermentabilidade do mosto. Verificou-se que as características da bebida como cor, pH, entre outros, foram semelhantes àquelas das cervejas obtidas quando malte de cevada é utilizado, sugerindo assim que o arroz maltado pode ser empregado satisfatoriamente na produção de cervejas livres de glúten.

Klose et al. (2011) estudaram a produção de cerveja utilizando aveia maltada, tendo avaliado diferentes condições de mosturação, utilizando temperaturas de 35°C, 45°C e 62°C, por períodos de tempo de 0 ou 20 minutos, sendo posteriormente a temperatura aumentada para 72°C, até completa hidrólise do amido. Os pesquisadores constataram que o rendimento em extrato foi de 62% em base seca, quando a aveia foi utilizada, valor bastante inferior àquele obtido quando o malte é utilizado, que é de aproximadamente 83% em base seca. Com isso, a fermentabilidade do mosto e consequente formação de etanol foram afetadas, apesar de o perfil fermentativo do processo ter sido semelhante àquele em

que mosto puro malte foi observado. Os autores relataram melhorias no processo de clarificação e de filtração do mosto, possivelmente devido a maior proporção de casca presente na aveia, quando comparado ao malte, utilizado como ensaio controle. Os teores de FAN medidos nos mostos elaborados com aveia variaram entre 161 ppm e 172 ppm, enquanto no mosto produzido com malte de cevada o teor foi de 182 ppm.

Também podem ser empregados adjuntos não convencionais como cereais diferentes daqueles empregados frequentemente na produção de cervejas, podendo-se citar arroz preto, bem como outras fontes de carboidratos, como pseudocereais, como amaranto, trigo sarraceno, quinoa, entre outros, que são frutos na forma de grãos e que apresentam características de cereais, por isso sua nomenclatura.

Andrade (2007) avaliou a produção de cerveja utilizando quirera de arroz preto como adjunto, em proporções que variaram de 10% a 45% (m/m), tendo verificado que a recuperação em extrato foi semelhante para todas as condições avaliadas, quando comparadas a condição controle, utilizando puro malte. O autor observou que a fermentabilidade do mosto e a formação de etanol foi semelhante para todas as condições estudadas, variando entre 49% e 52% e 4,24% e 4,95% v/v, respectivamente. De acordo com o pesquisador, o perfil do processo, com relação ao consumo de substrato, variação do pH, crescimento da levedura, formação de etanol foi semelhante para todas as condições avaliadas.

Santos (2011) estudou a produção de cerveja utilizando arroz preto como adjunto, na proporção de 45% m/m e realizou pré-tratamento térmico para a hidrólise enzimática do arroz, utilizando enzimas industriais, uma vez que o arroz não passou pelo processo de maltagem. Para o pré-tratamento foram utilizadas temperatura de 50°C, 80°C e 95°C, por 10, 30 e 23 minutos, respectivamente e relação água:malte de 5 litros de água:kg de malte. Após essa fase, o hidrolisado de arroz obtido foi resfriado a 47°C e então misturado ao malte para início do processo de mosturação. Foram utilizadas temperaturas de 47°C, 52°C, 62°C, 72°C e 78^{c}C, por 20, 30, 60, 30 e 10 minutos, respectivamente. O autor observou aumento da fermentabilidade do mosto obtido com arroz preto como adjunto, de aproximadamente 68%, quando comparado ao resultado obtido por Andrade (2007), que observou uma atenuação de aproximadamente 50%, porém sem pré-tratamento térmico e sem utilização de enzimas exógenas. O teor alcoólico obtido por Santos foi de 5,35% v/v e o pH da cerveja foi de 4,5, que segundo o autor se encontra dentro da faixa característica da bebida, sugerindo que o arroz preto tem potencial de aplicação tecnológica na produção de cerveja. O autor também constatou que a aceitabilidade sensorial da cerveja, contendo

45% de quirera de arroz preto como adjunto, foi elevada, onde mais de 80% dos avaliadores relataram que comprariam a cerveja.

Carvalho (2009) estudou a produção de cerveja contento banana como adjunto, tendo elaborado suco de banana utilizando pré-tratamento térmico com enzimas exógenas, para liquefação do amido presente na fruta. Um mosto puro malte com concentração em extrato de 11ºP, foi produzido, sendo, então, adicionado o suco de banana, em quantidade necessária para obtenção de um mosto com concentração de extrato primitivo de 17,5 ºP. Após a fermentação o autor observou que a concentração de etanol obtido foi de 47 g/L, o que representou um rendimento em etanol de 0,45 g/g, superior ao obtido por Dragone (2002), de 0,4 g/g, quando este realizou o estudo a produção de cervejas em processo *high gravity* com mosto com concentração inicial de 17,5ºP. O autor constatou, por meio de análise sensorial, que a bebida obtida contendo banana como adjunto foi estatisticamente preferida em relação às cervejas presentes no mercado.

Assim como para os adjuntos considerados convencionais, observa-se uma nova tendência na produção de cervejas, a qual visa o estudo da produção de cervejas utilizando-se grãos não convencionais, maltados ou não, para a produção de novos tipos dessa bebida.

Meo et al. (2011) estudaram a maltagem, sob condições de maceração alcalina, utilizando hidróxido de sódio 0,2% m/m, e condição padrão, utilizando apenas água, de diferentes pseudocereais como trigo sarraceno e amaranto. A germinação foi realizada durante 5 dias seguido de secagem por 20 horas. Então, os autores realizaram a mosturação dos maltes obtidos, utilizando de temperaturas de 42°C, 52°C, 64°C, 75°C e 80°C, por 30, 30, 40, 30 e 5 minutos, respectivamente. De acordo com os autores, sob condições alcalinas de maltagem, observou-se um aumento na liberação de aminoácidos livres (FAN) e nitrogênio solúvel (NS) para ambos os maltes, bem como o aumento no teor de extrato recuperado. Para o amaranto, observou-se um aumento de 50% na fermentabilidade do mosto (atenuação aparente), utilizando processo de maceração alcalina. Devido a maior liberação de FAN e NS no mosto, os autores sugerem a possibilidade de aplicação tecnológica desses pseudo-cereais na fabricação de cervejas livre de glúten, bem como ressaltam a necessidade de novos estudos com relação a maceração alcalina, uma vez que não existiam, até então, relatos na literatura avaliando maltagem de cereais sob condições alcalinas de maceração.

Espelta (*Triticum spelta* L.) é uma variedade de trigo utilizada para produção de alimentos não convencionais, pois apresenta potencial terapêutico devido aos elevados teores de nutrientes como carboidratos, proteínas, vitaminas e sais minerais, podendo

também ser utilizado na panificação, conforme relatado por Muñoz-Insa et al. (2013). Os pesquisadores estudaram a malteação de espelta para aplicação em processo cervejeiro, variando parâmetros como teor umidade absorvida para germinação, de 43, 45 e 47%, temperatura de germinação, 13, 15 e 17°C e tempo de germinação, 5, 6 e 7 dias. Segundo os pesquisadores, as melhores condições de malteação foram 47% de umidade, 5 dias de germinação e temperatura de germinaçãoo de 17°C, tendo sido observado 82,9% de extrato presente nos maltes obtidos, após a mosturação, proporção semelhante àquelas observadas em maltes de cevada e de trigo, utilizados como condição controle. Com relação ao teor de aminoácido livres, o valor obtido foi de 100mg/100g de malte, aproximadamente 25% inferior ao observado em malte de cevada, que pode variar de 120 a 150mg/100g de malte. A atenuação aparente observada também foi inferior, de 77%, enquanto para o malte de cevada a atenuação aparente é de aproximadamente 82%, sugerindo que menores teores de açúcares fermentescíveis são liberados no mosto, durante o processo de mosturação.

Pode-se observar, com o exposto, a tendência de inovação tecnológica, bem como do emprego de matérias-primas muito distintas daquelas comumente empregadas, em especial os pseudocereais, que representam potencial de aplicação na elaboração de cervejas especiais, devido a seus elevados teores de nutrientes.

2.3.2.2 Quinoa

A quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), um pseudocereal, pertencente à família *Chenopodiaceae* e tanto a planta quanto o grão (fruto aquênio – seco) denominam-se quinoa. O grão tem forma cilíndrica e dimensões de aproximadamente 2,0 a 2,5mm de diâmetro por e 1,2 a 1,6mm de largura (BORGES et al. 2010; SPEHAR E SANTOS, 2002).

O grão de quinoa, em sua estrutura, apresenta pericarpo, episperma (testa), perisperma (tecido de armazenamento) e embrião (radícula e cotilédones), o que a caracteriza como semente, assim como nos cereais (BORGES et al. 2010). A Figura 2 representa um corte longitudinal do grão de quinoa.

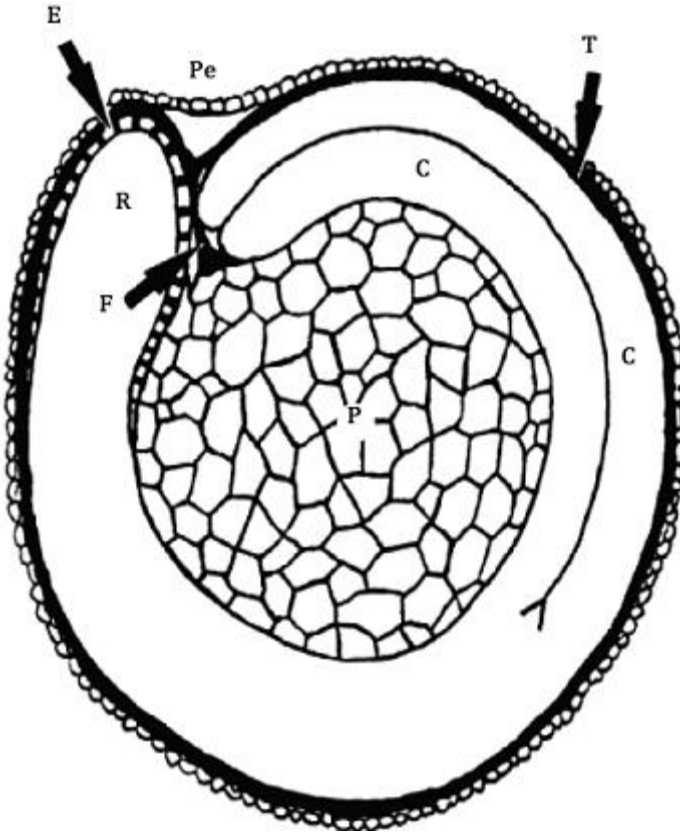

Figura 2 – Representação esquemática do corte longitudinal do grão de quinoa (E: endosperma, Pe: pericarpo, P: perisperma, R: radícula, F: funículo, C: cotilédones, T: testa). Fonte: Prego et al. (1998).

2.3.2.2.1 Produção e Mercado

A quinoa é cultivada em países latinos como Chile, Bolívia, Peru, Equador e foi recentemente introduzida na Europa, América do Norte, Ásia e África (SPEHAR; SANTOS, 2002; BRADY et al. 2007; NSIMBA et al. 2008), adaptando-se facilmente em diferentes condições de solo e clima, podendo ser cultivada desde o nível do mar até altitudes de quatro mil metros e suportar temperaturas entre -8 a 38°C (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA, 2013).

De acordo com o Ministério da Agricultura do Peru, observa-se uma tendência no crescimento na produção de quinoa naquele país, tendo sido constatado um aumento de 41% na área plantada, nos últimos dez anos, conforme mostra a Figura 3. Em 2012 foram colhidas 43,6 milhões de toneladas e as exportações somaram mais de 29 bilhões (PERU, 2013).

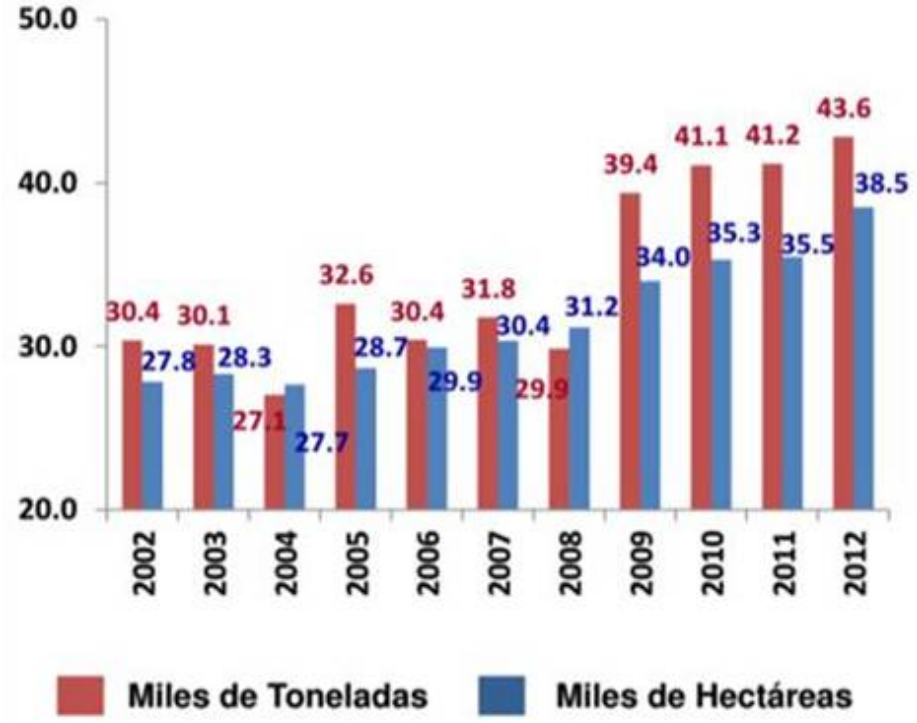

Figura 3 – Análise do mercado de quinoa em milhares de toneladas e milhares de hectares, no Peru, na última década. Fonte: Ministério da Agricultura do Peru, 2013.

No Brasil, as pesquisas sobre o plantio de quinoa iniciaram na década de 90, com objetivo de adaptação dessa cultura no país, que pode crescer em diferentes tipos de solos (SPEHAR; SOUZA, 1993). Segundo Borges et al. (2010), a demanda brasileira por quinoa é suprida por produto importado, pois a área de plantio no Brasil ainda é pequena, devido ao seu alto custo, bem como o desconhecimento da população, que consome normalmente cereais, como arroz, trigo e milho. A ausência de cultivares adaptadas às condições locais também favorecem o desconhecimento da quinoa, que tem sido pouco explorada, justificando a necessidade de novos estudos sobre seu cultivo, bem como sua aplicação tecnológica, nutricional e funcional, consolidando seu uso como mais uma matéria-prima na dieta alimentar brasileira. De acordo com os autores, os preços atrativos de mercado tem aumentado o interesse de produtores e da indústria alimentícia.

Vasconcelos et al. (2012), realizaram um estudo sobre o plantio de quinoa na região do centro do estado do Paraná, na cidade de Campo Mourão, no período da safrinha. Foram testadas diferentes datas de semeadura, entre os meses de março e junho, com o objetivo de analisar o desenvolvimento e a produtividade da variedade BRS Pirabiru. Os autores verificaram que quanto mais cedo ocorreu o plantio, melhor foi o desenvolvimento

da planta e maior foi a produtividade, podendo chegar a 1.884 kg/Ha, enquanto a média de produtividade em outros meses foi de aproximadamente 640 kg/Ha.

2.3.2.2.2 Importância Nutricional da Quinoa

Nos grãos de quinoa, o perisperma é o principal tecido de reserva energética, correspondendo ao endosperma nos cereais. A quinoa evidencia-se por sua composição centesimal, rica em nutrientes como potássio, magnésio, sódio, ferro, zinco, manganês, cobre, cálcio e fósforo e vitaminas como A, E, C, riboflavina, tiamina e niacina, além de lipídeos e fibra alimentar (PERU, 2013). Borges et al. (2010) relatam que a quinoa possui elevado teor de nutrientes (por 100g de grão), quando comparado aos demais cereais consumidos normalmente no Brasil (trigo, milho, arroz e aveia). A composição química de grãos de quinoa é apresentada na Tabela 2, conforme relatado por Stikic et al. (2012).

Tabela 2 – Composição química grãos de Quinoa.

Composição	**Conteúdo (%)**
Umidade	10,87±0,02
Proteína	17,41±0,04
Lipideos	4,79±0,01
Fibra Bruta	10,32±0,01
Cinzas	7,06±0,05
Amido	49,55±0,04
Fósforo	2,40g/kg±0,55
Cálcio	4,50g/kg±0,24
Sódio	2,20g/kg±0,18
Potássio	9,52g/kg±0,69
Magnésio	1,50g/kg±0,15
Ferro	49,63g/kg±4,90
Cobre	2,89g/kg±0,78
Zinco	18,70g/kg±0,81
Manganês	19,43g/kg0,61

Fonte: Stikic et al. (2012).

A quinoa possui teor elevado de aminoácidos essenciais, principalmente lisina, quando comparada aos cereais mais comuns, como arroz, trigo e milho, conforme apresentado na Tabela 3, e tem despertado o interesse de pesquisadores, objetivando sua aplicação na indústria de alimentos (HUNT et al. 2002; GELY; SANTALLA, 2007). De acordo com FAO (2013), a quinoa é o único alimento vegetal que possui todos os aminoácidos essenciais e, segundo Castro et al. (2007), devido ao seu alto valor biológico,

pode ser comparada a caseína do leite, o que justifica sua utilização na complementação de farinhas para a panificação.

Tabela 3 – Comparação de alguns aminoácidos essenciais (mg aminoácido/g proteína) da proteína de quinoa, milho, trigo e arroz.

Aminoácidos Essenciais	mg aminoácido/g proteína			
	Quinoa	Milho	Trigo	Arroz
Fenilalanina+Tirosina	71,90	98,92	92,85	78,70
Histidina	36,00	31,83	23,41	22,70
Isoleucina	42,00	23,35	23,81	36,00
Leucina	69,30	134,78	81,48	68,00
Lisina	44,50	25,96	25,87	22,70
Metionina+Cistina	25,70	22,21	18,12	32,00
Treonina	43,00	30,36	24,67	33,30
Triptofano	n.d.*	n.d.*	n.d.*	n.d.*
Valina	46,20	27,34	27,89	51,00

Fonte: Adaptado de BORGES et al. 2010. *n.d. – não determinado.

Devido a interessante composição nutricional da quinoa, a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, lançaram, oficialmente, 2013 como o Ano Internacional da Quinoa, alimento que pode desempenhar um papel importante na erradicação da fome, da desnutrição e da pobreza (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA, 2013).

Na quinoa, a ausência de glúten favorece sua aplicação em produtos alimentícios destinados a pessoas portadoras da doença celíaca (MEARIN et al. 2005; RODRIGO 2006; CASTRO et al. 2007; ALMEIDA et al. 2008), uma enteropatia auto-imune desencadeada pela ingestão de glúten presente em grãos como trigo, cevada, centeio e aveia, em indivíduos geneticamente susceptíveis, podendo provocar danos a mucosa intestinal e comprometendo sua funcionalidade, como absorção de nutrientes, podendo ainda apresentar sintomas clínicos como diarréia crônica, perda de peso, distensão abdominal, entre outros, conforme citado por Jubete et al. (2010).

Segundo esses autores, diferentes pseudocereais como trigo sarraceno, amaranto e quinoa, devido ao seu perfil de nutrientes, tem sido empregados para melhorar a qualidade nutricional de produtos de panificação, massas, entre outros.

Jancurová et al. (2009) relatam que a quinoa tem sido empregada na complementação de alimentos para crianças, bem como cereal, no café da manhã. Os autores também relatam que a farinha de quinoa pode ser empregada na panificação,

utilizando-se de 10% a 13% em massa para a produção de pães, 30% a 40% em massa para a produção de massas e até 60% em massa para a produção biscoitos doces.

Além do emprego da quinoa em alimentos, o grão pode ser utilizado para produção de bebidas, como cerveja. Meo et al. (2011) estudaram a maltagem de quinoa, sob condições de maceração alcalina, utilizando hidróxido de sódio 0,2% m/m, e condição controle, utilizando apenas água. A germinação foi realizada por 5 dias seguido de secagem por 20 horas. Então os autores realizaram a mosturação do malte obtido, utilizando rampas de temperatura 42°C, 52°C, 64°C, 75°C e 80°C, por 30, 30, 40, 30 e 5 minutos, respectivamente. Os autores verificaram que para todos os parâmetros estudados, a condição alcalina de malteação acarretou em uma redução na liberação de compostos durante a mosturação. O conteúdo de extrato recuperado observado foi de 92% para a condição controle de malteação, enquanto para a condição alcalina foi de 87%. O teor de aminoácidos livres também foi inferior, sendo observada redução de aproximadamente 22% quando a condição alcalina de malteação foi estudada (150 mg/L), em comparação a condição controle (192 mg/L). Com relação ao conteúdo de nitrogênio solúvel a redução também foi pronunciada, por volta de 15%. Os pesquisadores compararam o malte obtido a partir de quinoa com outros maltes produzidos e avaliados no mesmo trabalho, sendo eles malte de sorgo, malte de amaranto e malte de trigo sarraceno. Para ambas as condições de malteção, a quinoa apresentou os menores teores de FAN, NS e a eficiência de extração também foi inferior. Porém, os autores sugerem que a quinoa pode ser aplicada em processos cervejeiros, para obtenção de produtos livres de glúten.

2.3.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma planta pertencente à família *Cannabinaceae*, apresenta flores masculinas e femininas em indivíduos diferentes (VENTURINI FILHO; CEREDA, 2001). Estas inflorescências são utilizadas na indústria cervejeira para conferir amargor e aroma à cerveja, proveniente de resinas amargas e óleos essenciais, respectivamente (LAMAGNA et al. 2004; KUNZE, 1996)

Os α-ácidos são os mais importantes componentes de resinas de lúpulo e representam uma mistura de três análogos principais: cohumulone, humulone e adhumulone. Durante a fervura ocorre a isomerização dos α-ácidos em iso-α-ácidos, transformação química que confere gosto amargo da cerveja (JASKULA-GOIRIS et al.

2010). A Figura 4 apresenta a estrutura química de uma molécula de α-ácido não isomerizado e isomerizado.

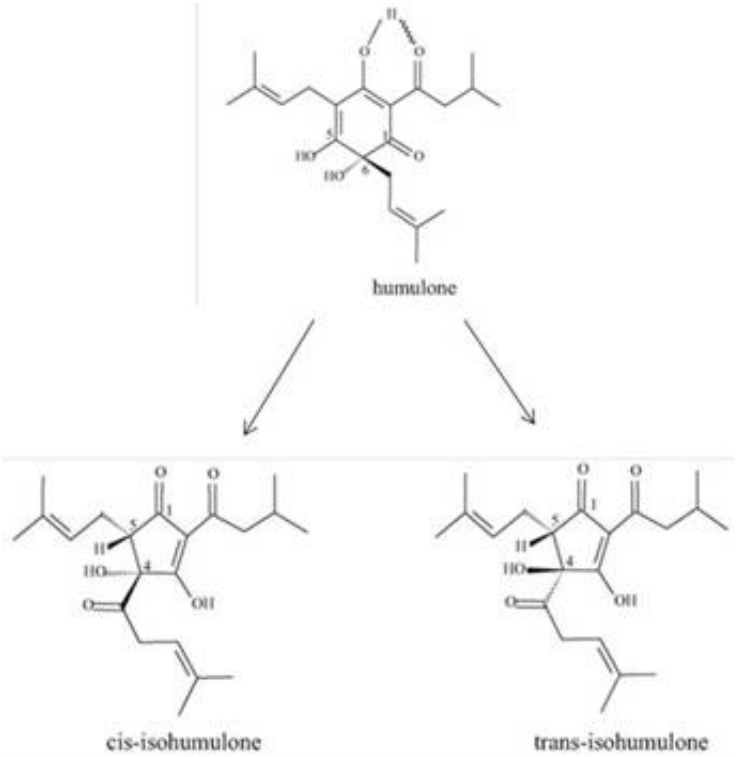

Figura 4 – Molécula de α-ácido (humulona) em sua forma comum (superior) e isomerizada (inferiores) Fonte: Adaptado de Jaskula-Goiris et al. (2010).

O lúpulo pode ser comercializado na forma de flores secas, de *pellets* ou de extrato concentrado, podendo ser subdividido em lúpulo aromático e de amargor (SEIDL, 2003). A Tabela 4 apresenta a composição química do lúpulo em flor, de acordo com Tschope (2001).

Tabela 4 – Composição química de lúpulo em flor.

Composição Química	%
Umidade	10-12
Resinas amargas totais	12-22
Óleos essenciais	0,5-2,0
Lipídeos	2,5-3,0
Proteínas	13-18
Polifenóis	4-14
Açúcares	2-4
Aminiácidos	0,1-0,2
Celulose	10-17
Sais minerais	7-10

Fonte: TSCHOPE (2001).

Os α-ácidos proporcionam amargor na cerveja, o que depende, principalmente, da isomerização desses α-ácidos em iso-α-ácidos. Esta conversão ocorre quando a mistura é submetida à ebulição por tempo prolongado ou a um tratamento alcalino (KUNZE, 1996).

Os óleos essenciais contidos na flor do lúpulo também são muito importantes no processo cervejeiro, pois fornecem componentes de aroma à cerveja. Apesar de serem desejáveis, são muito voláteis, entre 96 e 98% do seu conteúdo se perde durante a fervura, o restante, mesmo em baixa concentração, sofre oxidação e confere o caráter aromático do lúpulo à cerveja (TSCHOPE, 2001).

Além do aroma e amargor, o lúpulo apresenta ação antisséptica, pois os iso-α-ácidos são bacteriostáticos e contribuem para a estabilidade do sabor e espuma da cerveja (VENTURINI FILHO; CEREDA, 2001).

2.3.4 Levedura

Leveduras são organismos unicelulares que se reproduzem principalmente por brotamento (TENGE, 2009).

De acordo com Dragone e Almeida e Silva (2010), o gênero *Saccharomyces* apresenta várias cepas consideradas seguras para produção de cervejas, sendo divididas, basicamente, em dois tipos importantes: leveduras utilizadas para produção de cervejas do tipo *lager* ou do tipo *ale*, processos conhecidos como de baixa e alta fermentação, respectivamente, realizados pelas espécies *S. uvarum (carlbergensis)* e *S. cerevisiae*, respectivamente, mas que atualmente ambas são denominadas de *Saccharomyces cerevisiae*.

As características das cervejas, como sabor e aroma, são determinadas, principalmente pelo tipo de levedura utilizada na fermentação. O álcool, que é o principal produto de excreção da levedura, contribui pouco para o sabor da cerveja, ao contrário de vários outros produtos formados durante a fermentação, variando entre tipo e concentração (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

Segundo Stewart (2000), vários fatores podem influenciar no sabor da cerveja, incluindo: a temperatura e o pH de fermentação, o tipo e concentração de adjunto, o lúpulo, o modelo de fermentador e a concentração do mosto. A Figura 5 apresenta uma representação gráfica genérica de fermentação de mosto cervejeiro.

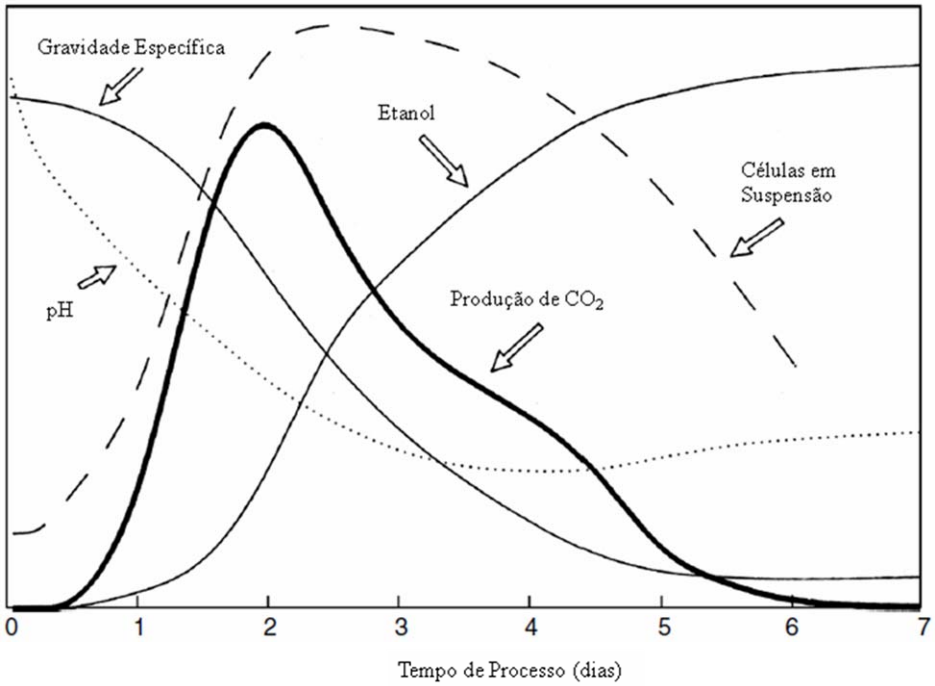

Figura 5 – Representação gráfica de processo fermentativo de mosto cervejeiro. Fonte: Adaptado de MUNROE (2006).

2.4 Produção de Cerveja

O processo de elaboração do mosto cervejeiro segue diferentes operações, conforme demonstrado na Figura 6.

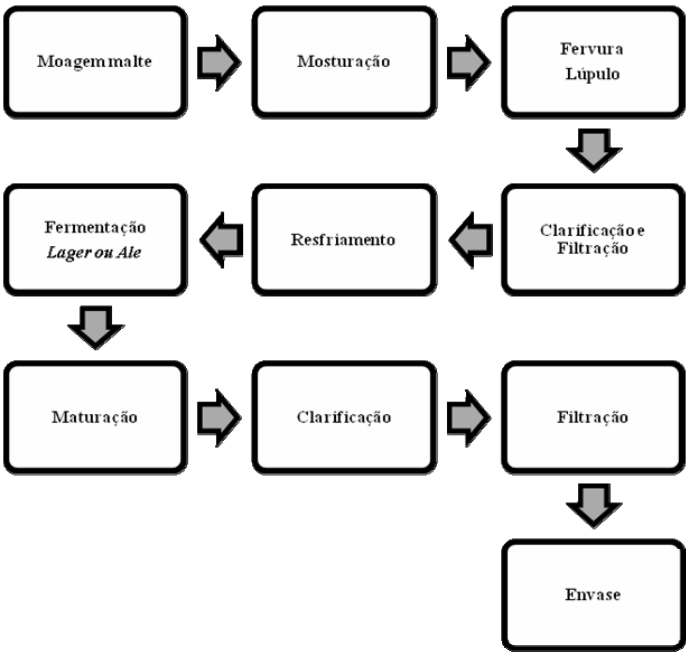

Figura 6 – Fluxograma do processo de produção de cerveja. Adaptado de Dragone e Almeida e Silva (2010).

No processo de mosturação, a hidrólise do amido é atribuída, principalmente, às atividades das α e β-amilases. Enquanto estas são as principais enzimas envolvidas em temperaturas de mosturação programadas, outras enzimas, como proteases, glucanases, atuam cumprindo outras funções importantes, como a de reduzir a viscosidade, pela ação hemicelulases, e da liberação de peptídeos de diferentes tamanhos, que influenciarão na formação e estabilidade da espuma, pela ação das proteases (BRIGGS et al. 2004). Nessa etapa há liberação de aproximadamente 70% em massa de carboidratos fermentescíveis, incluindo glicose, maltose, frutose, sacarose e maltotriose (STEWART, 2000).

A Tabela 5 apresenta as temperaturas de ação de enzimas presentes no malte.

Tabela 5 – Temperaturas de ação das enzimas presentes no malte de cevada.

Enzimas	Temperaturas ótimas (ºC)	Função
Hemicelulases	40-45	Hidrólise da hemicelulose em produtos de médio e baixo peso molecular
Exopeptidases	40-50	Hidrólise das proteínas de alto e médio peso molecular em aminoácidos
Endopeptidases	50-60	Hidrólise das proteínas em produtos intermediários de alto e médio peso molecular
Dextrinase	55-60	Hidrólise do amido em maltose e maltotriose pela hidrólise das ligações α,1→6
β-amilase	60-65	Hidrólise do amido em maltose pela hidrólise das ligações α,1→4
α-amilase	70-75	Hidrólise do amido em dextrinas inferiores pela hidrólise das ligações α,1→4

Fonte: Adaptado de TSCHOPE (2001).

Após o processo de mosturação o mosto é clarificado, quando os sólidos em suspensão são retidos através da filtração, sendo o mosto transferido para a tina de fervura, que tem por objetivo sanitizar e concentrar o mosto. Nesta etapa são adicionados os lúpulos de amargor e de aroma, sendo gerado nessa fase o *"trub"*, que é o resíduo obtido pela complexação de polifenóis do lúpulo e de proteínas contidas no mosto. Então o *"trub"* é separado do mosto, resfriado, aerado e transferido para a fermentação, sendo então inoculado com a suspensão de leveduras. Após o processo de fermentação, inicia-se a fase de acabamento da bebida, compreendida pelas etapas de maturação, filtração, carbonatação, envase e pasteurização, estando a cerveja pronta para o consumo (ANDRADE, 2007).

A fermentação de cervejas do tipo *lager* são conduzidas em temperaturas compreendidas entre 7 a 14ºC, enquanto a fermentação de cervejas do tipo *ale* são conduzidas em temperaturas que variam de 15 a 20ºC (MUNROE, 2006).

Segundo Brányik et al. (2012) pode-se produzir cerveja sem álcool, ou com baixos teores desse composto, de duas maneiras: remoção do etanol a partir de cervejas normais, ou pela limitação de sua produção durante o processo de fermentação.

Existem diferentes métodos de remoção do álcool a partir de cervejas normais, como: extração supercrítica com dióxido de carbono (MORI, 2004), pervaporação (MAGALHÃES MENDES et al. 2008) e destilação (MOREIRA DA SILVA; WIT, 2008).

No que diz respeito ao controle de formação do etanol durante a fermentação, o processo fermentativo pode ter sua condução interrompida rapidamente por redução da temperatura de fermentação (resfriamento rápido a 0ºC), a pasteurização e/ou pela remoção da levedura a partir de mosto em fermentação (filtração, centrifugação) (BRÁNYIK et al. 2012). Para Kunze (1996) o controle na formação de etanol pode ser realizado alterando-se o processo de mosturação, que pode ser conduzida em temperaturas entre 72 a 75ºC, as quais favorecem a ação da enzima α-amilase, que hidrolisam o amido em dextrinas. De acordo com Sohrabvandi et al. (2010), nessa faixa de temperatura a enzima β-amilase é desativada, evitando, dessa forma, a formação de maltose e conseqüente formação de etanol durante a fermentação.

2.5 Análise Sensorial

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

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

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

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Contribuir para o desenvolvimento de uma tecnologia para produção de cerveja, com baixo teor de etanol, utilizando quinoa como adjunto.

3.2 Específicos

- Comparar diferentes cepas de leveduras com relação a produção de etanol, utilizando condição alternativa de mosturação, para obtenção de teores reduzido de álcool;
- Analisar os processos fermentativos de diferentes formulações de mosto cervejeiro, produzidos sob condição alternativa de mosturação, em escala de bancada com volumes de 10 litros, utilizando quinoa como adjunto nas proporções 10%, 20%, 30% e 45%, utilizando a cepa de levedura previamente testada que proporcionou o menor rendimento em etanol;
- Caracterizar por meio de testes físico-químicos e avaliar sensorialmente as bebidas obtidas;
- Produzir em escala piloto com capacidade de 200 litros o produto com maior aceitação, para estudo do processo fermentativo em escala piloto.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos nas instalações da Planta Piloto de Bebidas do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo.

4.1 Matérias-primas e Insumos para Produção de Mostos Cervejeiros

4.1.1 Água

A água utilizada no processo cervejeiro foi obtida de poço artesiano que abastece a Escola de Engenharia de Lorena, tendo sido caracterizada por Aizemberg e Almeida e Silva (2012).

4.1.2 Quinoa e Malte de Cevada

A quinoa, de origem peruana, foi adquirida em loja fornecedora de produtos naturais, localizada na cidade de São Paulo – SP, em embalagens contendo 400g. O malte de cevada tipo *Pilsen* foi fornecido pela Malteria do Vale, de Taubaté – SP, em sacos de 50kg.

4.1.3 Lúpulo

O lúpulo utilizado foi da variedade Zeus, na forma de *pellets*, com 12% (m/m) de α-ácidos e foi fornecido pela Wallerstein Industrial e Comercial Ltda., São Paulo – SP.

4.2 Leveduras

Foram avaliadas três diferentes cepas de leveduras cervejeiras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, sendo uma cepa pertencente ao banco de Microrganismos da Planta Piloto de Bebidas da Escola de Engenharia de Lorena, PPB-01, e duas comerciais *Saflager* S-23 e *Saflager* W-34/70 (Fermentis, França), adquiridas de fornecedor especializado. As leveduras foram mantidas em meio Agar Extrato de Malte, a 4°C.

4.3 Produção de Malte de Quinoa

O malte de quinoa foi produzido sob condições adaptadas de Venegas (2007) e foi caracterizado pela Malteria do Vale, Taubaté, SP.

Realizou-se a maceração da quinoa em água obtida de poço artesiano que abastece a Escola de Engenharia de Lorena, a temperatura ambiente, por um período compreendido entre 6 e 8 horas, para se alcançar o teor de umidade ideal para germinação (35 a 40%) (Figura 7).

Figura 7 – Processo de maceração da quinoa.

Obtido o teor de umidade necessária para germinação, o excesso de água foi drenado e as bandejas contendo a quinoa macerada foram acondicionadas em câmara refrigeradora para controle de temperatura de germinação, mantidas entre 14 e 16ºC. A germinação foi conduzida por 2 dias, sendo os grãos revolvidos a cada 12 horas para oxigenação.

Após o processo de germinação, a quinoa foi submetida à secagem em estufa com ar estático, em temperatura controlada a 50ºC±2,0 (Adaptado de Venegas, 2007), sendo os grãos revolvidos a cada 12 horas, até que o teor de umidade resultante fosse de aproximadamente 5%, sendo então realizada a separação do grão da radícula, por atrito, conforme mostra a Figura 8.

Figura 8 – Separação da radícula e do grão de malte de quinoa, por atrito.

Após a remoção das radículas, o malte de quinoa foi acondicionado em recipientes de plástico alimentício, devidamente fechados, até o momento de seu uso no processo de produção de mostos cervejeiros.

4.3.1 Porcentagem de germinação malte de quinoa

A avaliação da porcentagem de germinação dos grãos de quinoa foi realizada conforme metodologia descrita pela *European Brewery Convention* (EBC, 2005). As amostras foram coletadas em duplicata. No teste controle, as placas de Petri tiveram seu fundo forrado com papel filtro Watman nº 1, sendo então pipetados 4mL de água destilada, de modo que todo o papel absorvesse a água. Após esse processo, foram contados 100 grãos inteiros de quinoa, sendo acondicionados em placas fechadas de Petri fechadas, e estas levadas para uma câmara de germinação com temperatura controlada em 19,5±1,5ºC, por 72 horas. Também foi realizado o teste de sensibilidade à água, no qual foram

preparadas placas de Petri da mesma forma que na condição acima descrita, porém adicionados 8mL de água destilada, sendo também levadas também à câmara de germinação (Figura 9).

A cada 24 horas os grãos germinados eram retirados e após o período de incubação foram contados os grãos não germinados e calculada a capacidade germinativa da quinoa, em porcentagem (%).

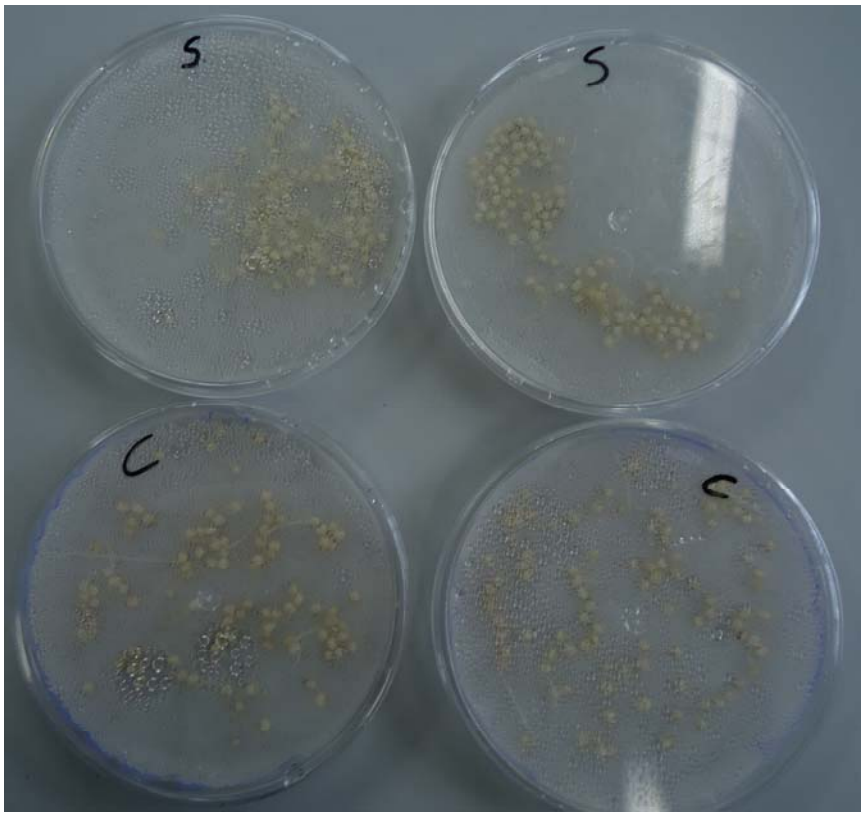

Figura 9 – Teste de germinação para produção de malte de quinoa (C: controle; S: sensibilidade à água).

4.3.2 Determinação da Umidade da Quinoa Malteada

A umidade foi determinada pela secagem por infravermelho de uma amostra de malte de quinoa moído, realizada em balança de umidade Denver Instrument IR-30 a 105°C, até massa constante (EBC, 2005).

4.3.3 Determinação do pH da Quinoa Malteada

Para determinação do pH (EBC, 2005) foi utilizado medidor de pH Marconi, Modelo MA 522, sendo a leitura realizada a temperatura de 20ºC, tanto da quinoa malteada quanto da mistura de grãos de quinoa malteada e malte.

4.4 Produção de Inóculo para Fermentação

Para a produção do inóculo foi preparado mosto sob condição controle de mosturação (item 4.4, Tabela 6), com concentração em extrato primitivo de 10 ^{o}P e amargor de 10 IBU, sendo as leveduras propagadas a temperatura de 25°C, sob agitação orbital a 120 rpm, por 48 horas.

4.5 Produção de Mostos Cervejeiros

A elaboração do mosto cervejeiro foi realizada de acordo com Dragone e Almeida e Silva (2010), conforme o fluxograma de processo de produção de cerveja apresentado na Figura 10.

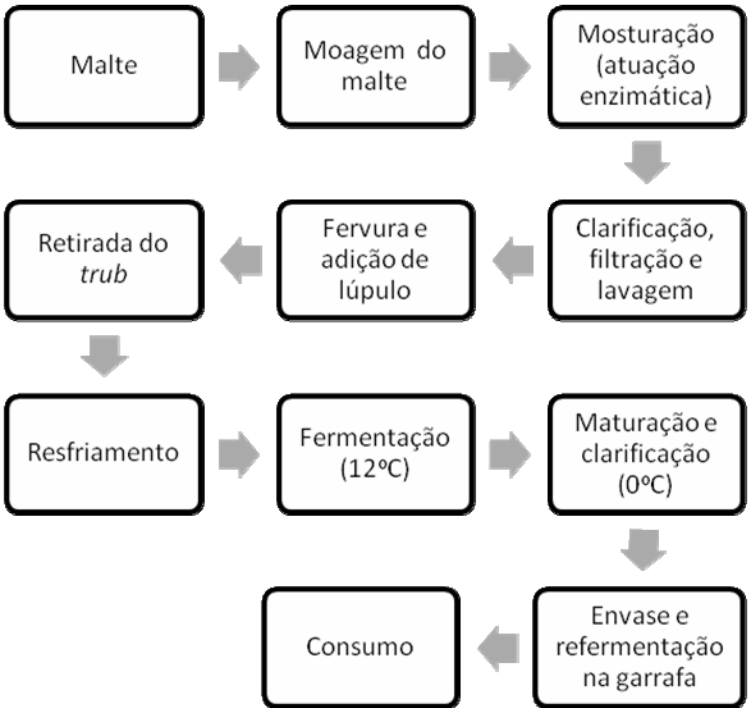

Figura 10 – Fluxograma de produção de cerveja. Adaptado de Dragone e Almeida e Silva (2010).

Todos os mostos foram produzidos em escala de bancada de até 10 litros, conforme mostra o esquema na Figura 11.

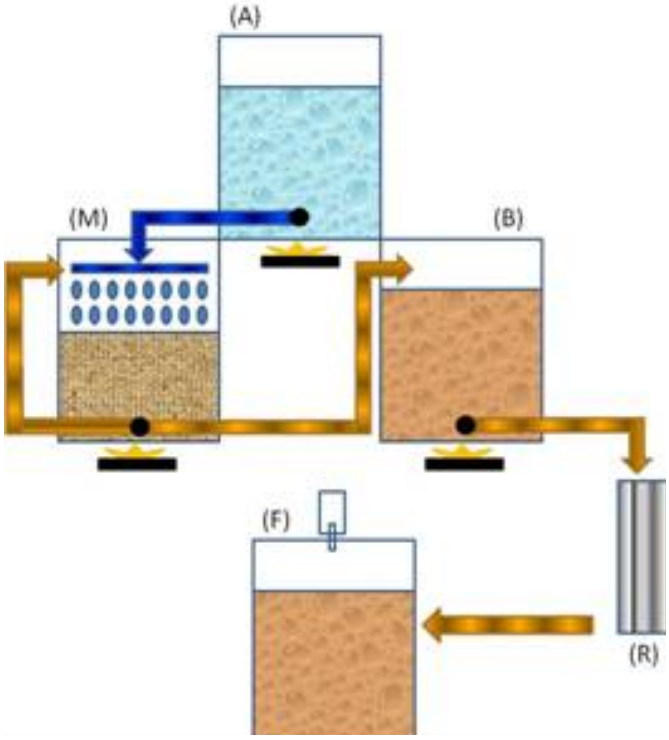

Figura 11 – Esquema da produção de mostos em escala de bancada de até 10 litros. (A) Água quente, (B - *Boil*) Ferfura, (M) Mosturação, clarificação e filtração, (R) Resfriamento, (F) Fermentação e Maturação.

Primeiramente, a proporção necessária de malte para se obter mosto cervejeiro com concentração em extrato primitivo de 10 ^{o}P±1,0 foi moída em partículas com 0,75mm de tamanho (MOUSIA et al. 2004). Após a moagem o malte foi submetido ao processo de mosturação, também conhecido como brassagem, quando foi realizada a infusão do malte em água, na proporção 3:1 (água:malte) sendo então mantidas condições controladas de temperatura e tempo, objetivando-se hidrolisar os diferentes compostos presentes no malte, como amido, proteínas, entre outros, sendo então realizada a prova do iodo, para avaliação de decomposição do amido. Após esse teste e comprovada a hidrólise do amido, as enzimas tiveram suas atividades cessadas pelo aumento de temperatura do processo para 78ºC (Carvalho, 2009).

Iniciou-se, então, a fase de clarificação do mosto, realizada na própria tina de mosturação, recirculando-o através da casca do malte, que funciona como camada ou torta filtrante, com o objetivo de reter os sólidos em suspensão. Após esse processo, o mosto clarificado e filtrado foi transferido para a tina de fervura. Durante a transferência, água foi

adicionada à tina de filtração, na mesma temperatura de inativação das enzimas, para que a torta resultante fosse lavada, com o objetivo de recuperar o extrato retido no bagaço, sendo também este volume transferido para a tina fervura, seguindo-se este processo até que fosse atingido o volume pretendido para produção do mosto.

Iniciada a fervura, foi adicionado lúpulo, que confere amargor, em quantidade necessária para se obter uma concentração de iso-α-ácidos de 10 mg/L, correspondente ao amargor de 10 BU±1,0 (*Bitterness Units* – Unidades de Amargor), considerando isomerização de aproximadamente 30% do conteúdo de α-ácido presente, de acordo com Jaskula-Goiris, et al. (2010). A fervura também objetivou a concentração do mosto, bem com sua sanitização. Após a fervura realizou-se a precipitação de proteínas, polifenóis e outros compostos insolúveis, formando resíduo denominado "*trub*", que foi separado do mosto líquido. Posteriormente o mosto foi resfriado até a temperatura de fermentação e transferido para o fermentador, sendo então inoculado com levedura cervejeira.

Foram avaliados diferentes perfis de mosturação, para avaliação de levedura, tendo como condição de mosturação de três passos ou padrão aquela apresentada na Tabela 6, tendo sido comparada com uma condição de mosturação de infusão simples, Tabela 7, esta com objetivo de obter mosto cervejeiro com concentração reduzida de extrato fermentescível (KUNZE, 1996).

Tabela 6 – Condição de mosturação padrão ou de três passos.

Enzimas	**Temperaturas ótimas (ºC)**	**Tempo de ação (min.)**	**Função**
Endopeptidases	52	30	Hidrólise das proteínas em produtos intermediários de alto e médio peso molecular
β-amilase	62	30	Hidrólise do amido em maltose pela hidrólise das ligações α,1→4
α-amilase	72	30	Hidrólise do amido em dextrinas inferiores pela quebra das ligações α,1→4
Finalização	78	10	Inativação das enzimas

Tabela 7 – Condição de mosturação por infusão simples para produção de mosto com baixo teor de extrato fermentescível.

Enzimas	Temperaturas ótimas (ºC)	Tempo de ação (min.)	Função
α-amilase	72	30	Hidrólise do amido em dextrinas inferiores pela hidrólise das ligações α,1→4
Finalização	78	10	Inativação das enzimas

4.5.1 Substituição Parcial do Malte por Quinoa Malteada na Produção de Mostos

Após a escolha da cepa de levedura, foram produzidos mostos utilizando-se malte de quinoa como adjunto (Tabela 8), em diferentes proporções, com relação água:malte de 3:1, sob condição de mosturação por infusão simples, visando obtenção de mosto cervejeiro contendo baixo teor de extrato fermentescível.

Tabela 8 – Composição da mistura de grãos para produção de mosto cervejeiro utilizando quinoa malteada como adjunto.

Proporção (%m/m) Malte/Quinoa
90/10
80/20
70/30
55/45

A quinoa malteada foi moída em liquidificador industrial até obtenção de partículas com tamanho de 60 *mesh* (Venegas, 2007).

4.6 Fermentações

Todas as fermentações foram realizadas em fermentadores cilíndricos de plástico alimentício de 10 litros, de forma estática sem agitação, em temperatura de 12±1,0^{o}C, com concentração inicial de leveduras de 1×10^{7} células/mL de mosto.

4.7 Maturação

Este processo foi realizado após a fermentação, em baixa temperatura, próxima a 0±1,0ºC, por 7 dias, visando a sedimentação de células e colóides.

4.8 Finalização da Bebida

Após o processo de maturação, as bebidas obtidas foram envasadas e tampadas em garrafas de vidro com volume de 600mL, contendo solução concentrada de açúcar em proporção equivalente a concentração 6,0g/L para refermentação no próprio recipiente e carbonatação do produto, por 30 dias, em temperatura ambiente.

4.9 Métodos Analíticos

Durante o processo fermentativo, e após a finalização das bebidas, foram coletados 10mL de amostra a cada 4 horas, para análises físico-químicas e contagem de células em suspensão.

O volume foi centrifugado a 5400 rpm, por 10 minutos, a temperatura ambiente, em centrífuga Cientec Modelo CT 5000d, o sobrenadante coletado e descarbonatado por 60 segundos em Agitador de Tubos Phoenix AP 56, sendo as células sedimentadas ressuspensas no mesmo volume retirado da fermentação, 10mL de água destilada, e levadas para determinação do número de células em suspensão.

4.9.1 Análises Físico-Químicas

Para as análises físico-químicas de mostos prontos, de amostras retiradas durante os processos fermentativos e de bebidas finalizadas utilizou-se o equipamento Beer Analyzer II (Anton Paar, Áustria), sendo determinados: Etanol (%v/v), Extrato Aparente (ºP), Atenuação Aparente (%). Para determinação do pH (EBC, 2005) foi utilizado medidor de pH Marconi, Modelo MA 522, sendo a leitura realizada a temperatura de 20ºC. Também foi determinado o pH da mistura de grãos de quinoa malteada moída e água destilada.

Amostras de mostos prontos e de bebidas finalizadas, bem como de uma amostra comercial, foram avaliadas com relação ao teor de aminoácidos livres (FAN) (EBC, 2005), em espectrofotômetro Biospectro Modelo SP-22. As bebidas finalizadas foram avaliadas com relação estabilidade de espuma (ASBC, 1996).

4.9.1.1 Teor de Aminoácidos Livres (FAN)

O teor de aminoácidos livres de amostras de mostos prontos, bebidas finalizadas e de amostra comercial, foi estimado conforme metodologia descrita por EBC (2005). Primeiramente, as amostras foram diluídas 100 vezes para o mosto pronto e 50 vezes para a bebida finalizada. 2mL de amostra diluída foram acondicionados em tubo de ensaio, sendo, então, adicionado 1mL de reagente de coloração (Nihindrina pH 6,7) e a mistura foi submetida a tratamento térmico em banho-maria em ebulição durante 16 minutos, sendo posteriormente resfriada a 20ºC por 20 minutos. Após o resfriamento foram adicionados à mistura 5mL de solução de diluição, sendo a amostra homogeinizada e lida em espectrofotômetro Biospectro Modelo SP-22, a 570nm. Água destilada foi usada como branco e solução de glicina como padrão, para comparação e cálculo de FAN, sendo os resultados expressos em mg/L, conforme a Equação 1.

$$FAN\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A_1 \times 2 \times d}{A_2} \qquad (1)$$

Em que:

- A_1= Absorbância da amostra;
- A_2 = Absorbância da amostra padrão (glicina);
- d = Fator de diluição.

4.9.2 Contagem de Células em Viáveis em Suspensão

A contagem celular para inoculação dos mostos e de células em suspensão durante as fermentações foi realizada em câmara de Neubauer. A determinação da viabilidade celular foi realizada utilizando-se azul de metileno, conforme descrito por ASBC (1996), no qual a amostra de células em suspensão recebeu uma alíquota de azul de metileno para cloração das células, considerando-se o volume necessário para resuspensão das células após centrifugação para separação do sobrenadante.

4.9.3 Determinação do Fator de Rendimento em Etanol ($Y_{P/S}$)

O fator de rendimento de substrato em etanol ($Y_{X/S}$) foi calculado ao final de cada ensaio, conforme a Equação 2, e posteriormente comparado entre todas as fermentações.

$$Y_{P/S} = \frac{P_f - P_i}{S_0 - S} \quad (2)$$

Onde:

$Y_{P/S}$ = Fator de rendimento de substrato em etanol (g/g);

P_f = Massa final de produto (g);

P_i = Massa inicial de produto (g);

S_0 = Massa inicial de substrato (g);

S = Massa final de susbtrato.

4.9.4 Análise de Estabilidade da Espuma

A estabilidade da espuma das diferentes bebidas elaboradas foi realizada de acordo com o método Sigma, descrito por ASBC (1996), adaptado do método de Carlsberg. O método é baseado no volume de cerveja formado a partir do colapso da espuma formada no momento em que se preenche o funil de espuma.

A Figura 12 Apresenta um esquema do funil utilizado para analisar a estabilidade da espuma.

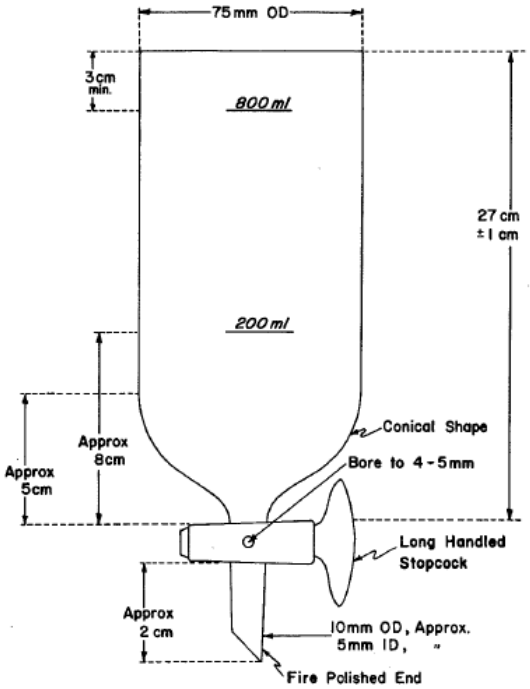

Figura 12 – Funil de espuma. Fonte: ASBC (1996).

A bebida obtida, depois de carbonatada, foi aclimatada a temperatura ambiente, sendo então aberta e vertida dentro do funil, cuidadosamente e com fluxo constante, para

evitar retenção de ar, com a boca da garrafa apoiada ao funil, até que a espuma atingisse o volume de 800mL, quando foi acionado o cronômetro.

Após 30±5 segundos, abriu-se a torneira do funil e deixou-se a cerveja escoar, volume "a" em 25 a 30 segundos (tempo t_1), para um copo de Becher numa velocidade tão uniforme quanto possível, até que uma pequena porção de espuma fosse transvazada. Fechou-se a torneira. Aguardou-se 200 segundos e, então, escoou-se a cerveja formada pelo rebatimento da espuma para uma proveta graduada de 100 mL, com uma velocidade de tal ordem que toda a cerveja formada escoasse entre 25 a 30 segundos.

No momento em que a última gota de cerveja escoou, fechou-se a torneira e parou-se o cronômetro, sendo anotado o tempo total em segundos e o volume "b" de cerveja escoada e calculando-se o tempo t (tempo total – t_1 – 30 s inicial).

Para rebater a espuma restante, lavou-se o funil com 2 mL de álcool isopropílico, sendo então aberta totalmente a torneira, deixando-se o líquido escoar para uma proveta de 25 mL durante 60±5 segundos. Anotou-se o volume "c" de cerveja escoada (líquido escoado menos 2 mL do agente anti-espumante) e realizou-se o cálculo do valor Sigma (□), conforme a Equação 3.

$$Sigma(\Sigma) = \frac{t}{2{,}303 \cdot \log \frac{b+c}{c}} \qquad (3)$$

Onde:

t = tempo de rebatimento da espuma (tempo total – t_1 – 30 s inicial);

b = volume de cerveja rebatida no tempo t;

c = volume de cerveja obtida a partir da espuma residual no tempo t.

As amostras foram comparadas entre si e também com uma amostra comercial.

4.9.5 Análise Sensorial

Após a finalização do produto, a bebida foi analisada sensorialmente (Figura 13) (Monteiro, 1984), avaliando-se aceitabilidade e atributos sensoriais, sendo comparadas com uma amostra de cerveja comercial, pelo maior número possível de provadores treinados ou não, obedecendo-se alguns critérios descritos a seguir:

- **Critérios de seleção:** participaram da pesquisa sensorial pessoas na faixa etária de 18 a 60 anos, aparentemente saudáveis, excluindo-se pessoas com idade inferior a 18 anos e superior a 60 anos, e todas aquelas que eram fumantes ou apresentaram algum problema notório como gripe, resfriado;
- **Aceitabilidade:** a prova sensorial foi aplicada para a escolha do nível de aceitabilidade, avaliando-se a impressão global do produto e possível intenção de compra;
- **Atributos Sensoriais:** foram questionados os atributos sensoriais da cerveja produzida, para análise de percepção do cliente, referentes aos itens, cor, aroma e sabor.

TESTE DE PREFERÊNCIA

Nome: _____ Idade: _____

9	Gostei muitíssimo
8	Gostei muito
7	Gostei moderadamente
6	Gostei ligeiramente
5	Nem gostei, nem desgostei
4	Desgostei ligeiramente
3	Desgostei moderadamente
2	Desgostei muito
1	Desgostei muitíssimo

AMOSTRA	COR	AROMA	SABOR	ACEITAÇÃO GLOBAL

Agora você vai avaliar a sua intenção de compra com base na tabela abaixo para cada amostra codificada.

5	Certamente compraria
4	Provavelmente compraria
3	Tenho dúvidas se compraria
2	Provavelmente não compraria
1	Certamente não compraria

AMOSTRA	NOTA DA INTENÇÃO DE COMPRA

Figura 13 – Modelo de ficha para a realização do teste de aceitação das bebidas avaliadas.

As análises foram realizadas em quatro etapas, comparando-se as amostras da seguinte forma: amostra comercial comparada à amostra puro malte e à amostra contendo quinoa malteada como adjunto.

4.10 Produção em Escala Piloto

Após a análise sensorial, descrita no item 4.9.5, foi produzida em planta piloto de 200 litros da bebida que apresentou a melhor aceitação sensorial, respeitando-se as análises estatísticas comparativas, para avaliação do processo fermentativo em escala piloto, sendo o mosto produzido conforme descrito no item 4.5.1. A Figura 14 apresenta a planta piloto pertencente a Escola de Engenharia de Lorena.

Figura 14 – Planta piloto de 200 litros pertencente a Escola de Engenharia de Lorena.

4.11 Delineamento Estatístico

Os dados das variáveis físico-químicas provenientes dos processos fermentativos e da análise sensorial foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) e para a comparação das médias foi aplicado o teste de Tukey, com significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o programa livre R, versão 3.0.2.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção de Linhagem de *Saccharomyces cerevisiae*

Os resultados referentes a utilização das três estirpes de leveduras, em diferentes condições de mosturação estão demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9 – Teor de álcool produzido pelas diferentes leveduras avaliadas e seus respectivos rendimentos ($Y_{P/S}$) na fermentação de mosto obtido sob condição controle de mosturação.

Levedura	Álcool (%v/v)	Tempo Fermentação (h)	$Y_{P/S}$ (g/g)
S-23	[a]4,04±0,02	168	0,40
W-34/70	[a]3,73±0,02	180	0,41
PPB-01	[a]3,69±0,01	180	0,40

[a]Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de 5% de confiança, segundo teste de Tukey.

Verifica-se na tabela acima que não há diferença significativa ($p<0,05$), quanto ao teor de álcool produzido pelas diferentes leveduras. Esses dados corroboram aqueles obtidos por Santos (2011) que avaliou o comportamento de diferentes linhagens de leveduras em mosto cervejeiro contendo arroz preto como adjunto, em proporção de 45% em massa, sendo observada maior produção de etanol com a linhagem S-23, em comparação com as linhagens 308, IIAC e W-3470, 5,01; 3,47; 4,20 e 4,88%v/v, respectivamente.

As leveduras também foram comparadas no processo de produção de cerveja com baixo teor de etanol. Neste caso, foi avaliada uma condição alternativa de mosturação, de infusão simples, utilizando-se a temperatura de 72ºC, para hidrólise do amido e em seguida a inativação das enzimas a 78ºC.

A Tabela 10 apresenta as médias dos teores de álcool produzido pelas leveduras e seus respectivos rendimentos, na fermentação de mosto obtido sob condição de infusão simples.

Tabela 10 – Teor de álcool produzido pelas diferentes leveduras avaliadas e seus respectivos rendimentos ($Y_{P/s}$), na fermentação de mosto obtido sob condição alternativa de mosturação.

Levedura	Álcool (%v/v)	Tempo Fermentação (h)	$Y_{P/S}$ (g/g)
S-23	[a]2,47±0,007	108	0,37
W-3470	[a]2,44±0,014	116	0,35
PPB-01	[a]2,68±0,007	116	0,39

[a]Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de 5% de confiança, segundo teste de Tukey.

Como pode ser observado na Tabela 10, o teo de álcool produzido foi semelhante em todos os casos, independente das leveduras avaliadas, não havendo diferença significativa ($p<0,05$) na fermentação de mosto obtido sob condição de mosturação por infusão simples, constatando-se claramente a menor produção de álcool nesta condição estudada, quando comparados aos valores obtidos na fermentação do mosto produzido na condição controle de mosturação (Tabela 9).

De acordo com Kunze (1996), nessa temperatura, 72°C, a ação de α-amilase é favorecida, possibilitando a obtenção de mosto cervejeiro com menor teor de açúcares fermentescíveis, uma vez que as dextrinas são liberadas no meio, conforme também descrito por Sohrabvandi et al. (2010), que relataram que em temperaturas de aproximadamente 77ºC a enzima β-amilse é inativada, evitando a acumulação de maltose durante a mosturação.

Porém, segundo Brányik et al. (2012), se o tempo de ação da enzima α-amilase for prolongado durante a brassagem, açúcares fermentescíveis serão formados, aumentando, dessa forma, o teor de álcool produzido durante a fermentação.

Mesmo sendo observado que a produção de álcool pelas diferentes leveduras não foi estatisticamente significativa, a cepa S-23 foi selecionada para seguirem-se os estudos, visto que o tempo de fermentação foi ligeiramente inferior (108 horas), quando comparado as demais cepas, W-3470 e PPB-01 (116 horas).

Na Figura 15 pode ser observado o perfil da fermentação pela linhagem S-23, do mosto cervejeiro obtido por infusão simples.

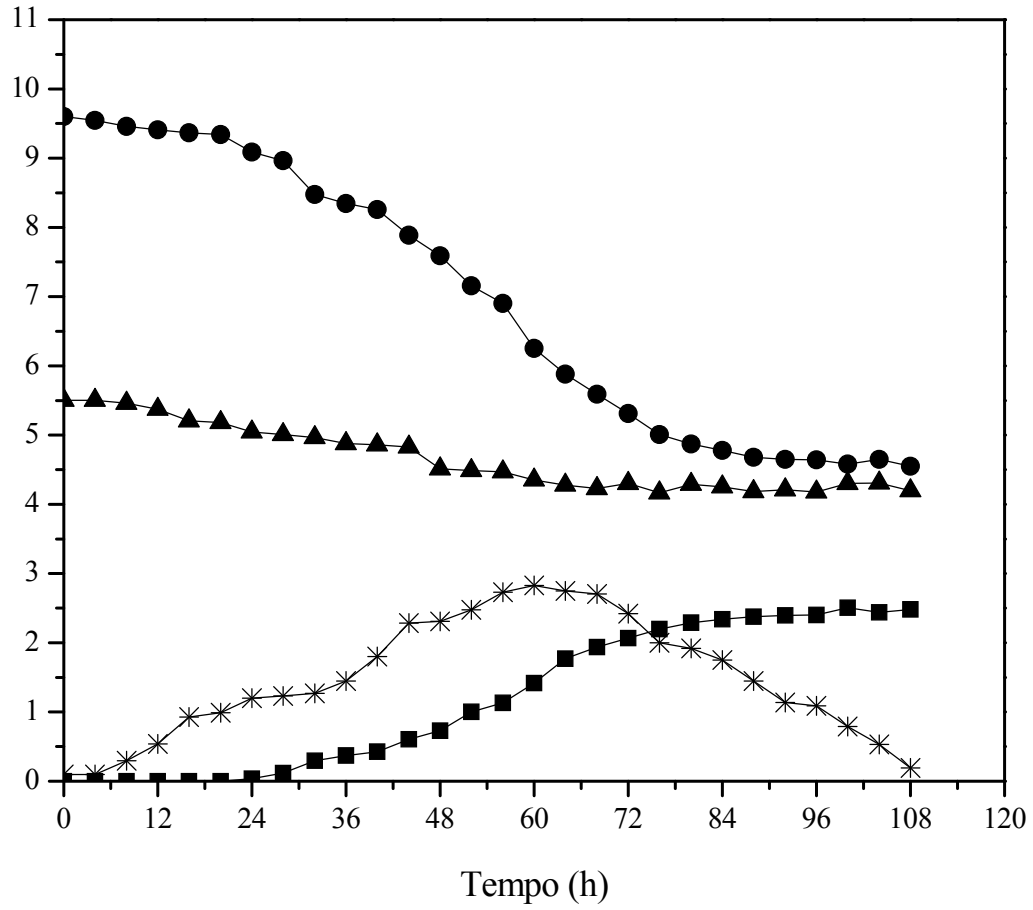

Figura 15 – Perfil de fermentação de mosto cervejeiro, elaborado com mosturação por infusão simples, apresentado pela linhagem de levedura S-23. (●) Extrato Aparente (ºP); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH; (✳) Células em Suspensão (10^8/mL).

De acordo Munroe (2006), o perfil da fermentação do mosto cervejeiro observado na Figura 15 é bem característico de fermentações para produção de cervejas. Neste experimento, verificou-se que a atenuação aparente foi de aproximadamente 50%, e o pH estabilizou por volta de 4,2, dentro da faixa de variação de 3,8 a 4,7, conforme relatado por Manzano et al. (2005), e que o número de células em suspensão ao final da fermentação, decaiu, corroborando os dados observados por Andrés-Toro et al. (1998), que desenvolveram modelos matemáticos para o processo de produção de cerveja em condições industriais.

O tempo de fermentação para o processo realizado sob a condição controle de mosturação foi de 180 horas, ao passo que para condição de mosturação por infusão simples, o tempo foi bem inferior, 108 horas. Isto aconteceu porque o mosto obtido na condição controle tem o maior teor de extrato fermentescível, sugerindo que este foi o fator

relevante para o maior tempo de fermentação. Entretanto, constatou-se que o número de células em suspensão da cepa S-23, observado durante os processos fermentativos, apresentou um perfil semelhante para as condições de mosturação avaliadas, considerando-se o tempo de processo, conforme mostrado pela Figura 16.

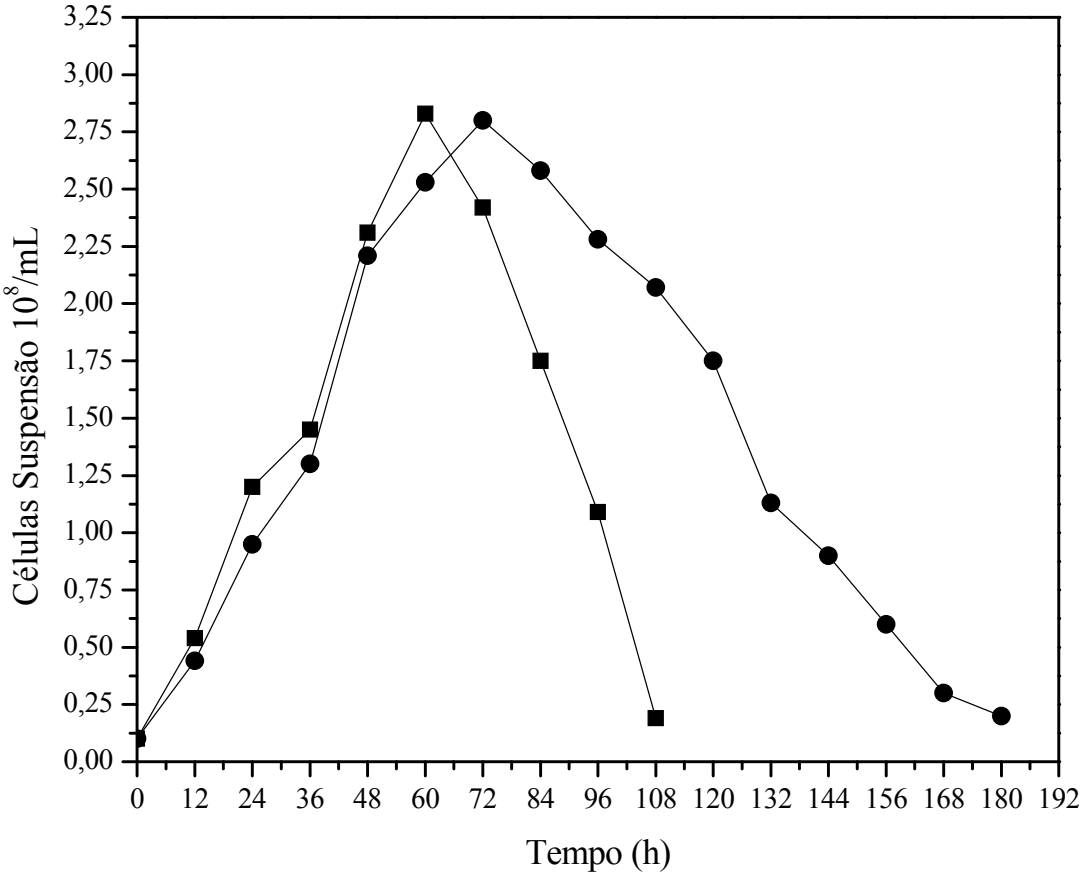

Figura 16 – Número de células em suspensão durante a fermentação de mostos cervejeiros obtidos sob condição controle (●) e infusão simples (■).

5.2 Produção do Malte de Quinoa

A produção do malte de quinoa visou a transformação do amido para posterior utilização na produção de cervejas contendo quinoa como adjunto malteado. A Figura 17 apresenta o aspecto dos grãos de quinoa após o processo de maceração, conduzido até atingir o valor de aproximadamente 40%, considerado ideal para germinação (Kunze, 1996).

Figura 17 – Aspecto dos grãos de quinoa antes (esquerda) e após (direita) o processo de maceração.

É possível observar que o grão absorveu água, comparando-se o tamanho dos grãos antes e após a maceração. Nos testes de germinação, observou-se que tanto para o teste controle, quanto para o teste de sensibilidade à água, a porcentagem de germinação da quinoa foi de 60%, em 72 horas, muito abaixo do normal, que gira em torno de 90%, segundo Kunze (1996).

Na Figura 18 verifica-se o aparecimento da radícula nos grãos de quinoa após as primeiras 24 horas, constatando-se que a germinação atingiu aproximadamente 40%, seguido de aproximadamente 53% em 48 horas de incubação.

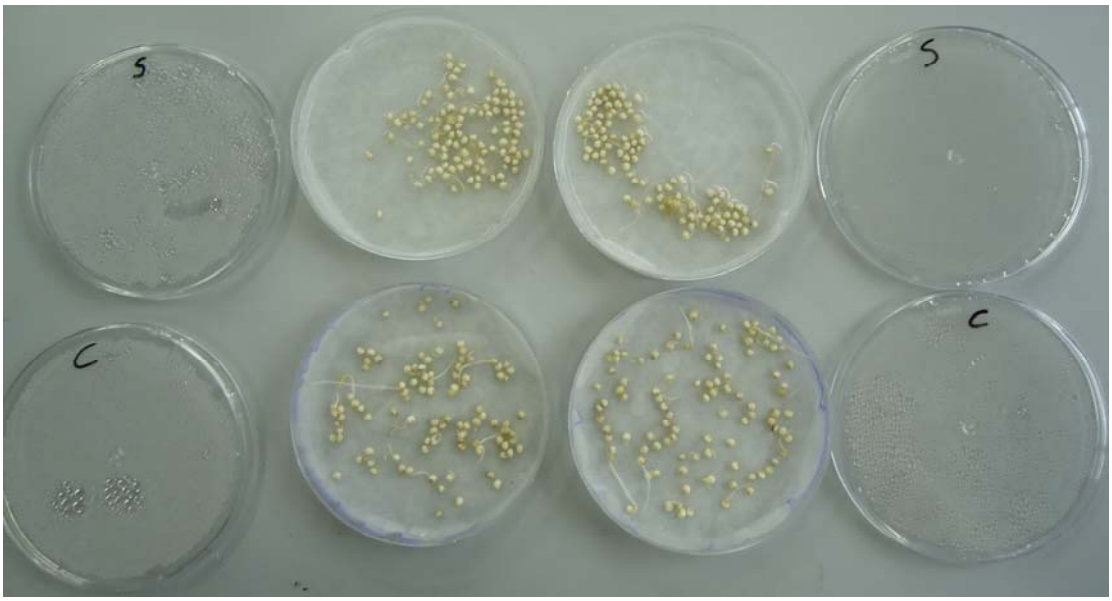

Figura 18 – Teste de germinação da quinoa após 24 horas (S) Sensibilidade; (C) Controle.

Após o processo de malteação da quinoa, observa-se a transformação do perisperma, conforme mostra a Figura 19.

Figura 19 – Corte dos grãos de quinoa antes (esquerda) e após (direita) a malteação. Parte em branco: perisperma.

Verifica-se na imagem da esquerda que o perisperma do grão de quinoa apresenta aspecto vítreo, enquanto na imagem da direita constata-se que houve modificação dessa estrutura, apesar de ter sido observada baixa porcentagem de germinação da quinoa durante a malteação, representada pela característica esponjosa do perisperma em um grão de malte de quinoa. Esse aspecto também foi observado por Zarnkow et al. (2007), que avaliaram a alteração da microestrutura do endosperma de painço (*Panicum miliaceum* L.) e relataram a visível transformação da condição vítrea do amido do grão durante o processo de malteação.

A Figura 20 apresenta micrografias dos grânulos de amido de quinoa, verificando-se seu formato esférico antes da malteação e poligonal após a malteação, sugerindo-se que houve modificação desse amido, podendo esses grânulos de amido serem encontrados isolados ou em agregados, conforme também observado por Hager et al. (2012) e Wolter et al. (2013).

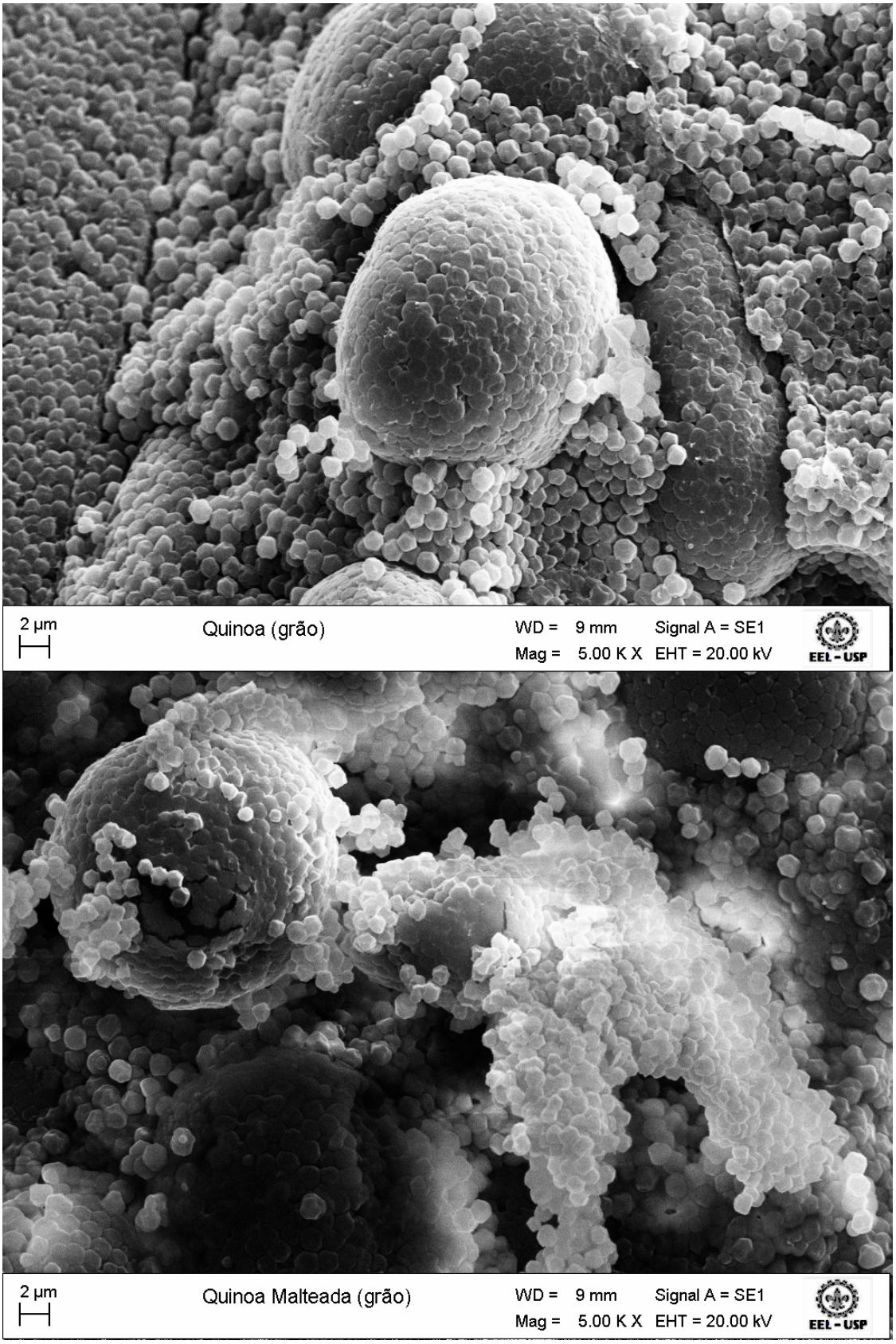

Figura 20 – Microscopia Eletrônica de Varredura de grânulos de amido de quinoa não malteada (superior) e quinoa malteada (inferior).

5.2.1 Caracterização Físico-Química do Malte de Quinoa

Após o processo de malteação, a quinoa foi submetida à caracterização para determinação do teor de extrato, teor de proteína, pH, umidade e nitrogênio solúvel. A Tabela 11 apresenta os teores em base seca dos referidos parâmetros.

Tabela 11 – Teores (base seca) dos parâmetros avaliados na caracterização do malte de quinoa, comparados ao malte produzido pela Malteria do Vale.

Parâmetros	Malte	55% Malte/45% Quinoa Malteada	Quinoa
Umidade	4,9%	5,5%	6,1%
pH	6,0	6,01	6,01
Extrato	82,4%	84,2%	86,4%*
Proteína	10,1%	11,3%	13,0%
Nitrogênio Solúvel	745mg/L	726mg/L	703mg/L*

*Estimado por cálculo

Analisando-se a Tabela 11, pode-se verificar que a quinoa malteada apresenta características semelhantes ao do malte de cevada. O resultado da umidade do malte de quinoa está de acordo com a faixa citada por Almeida e Silva (2005), que varia entre 4 e 6%, enquanto o pH 6,01 está acima do pH 5,0 descrito por Briggs et al. (2004). Com relação ao teor de extrato, sugere-se que o maior teor de extrato presente na quinoa malteada pode favorecer o rendimento em extrato na mosturação e contribuindo para a redução de custos de produção, devido utilização de menor quantidade de matéria-prima.

Meo et al. (2011) estudaram a malteação de quinoa e observaram que o total de nitrogênio solúvel foi de 1.096,00 mg/L, quando a maceração foi conduzida em água, enquanto que, quando a maceração foi conduzida sob condição alcalina obteve-se 953 mg/L de nitrogênio solúvel.

Quando a quinoa malteada obtida neste trabalho é comparada com aquela obtida por Meo et al. (2011), deduz-se que as condições de malteação utilizadas neste trabalho podem ter afetado a dissolução de nitrogênio no mosto, indicando que novos estudos devem ser realizados, objetivando-se a otimização da extração de compostos presentes na quinoa.

5.3 Produção de Mostos Utilizando Quinoa Malteada como Adjunto

Após o processo de malteação da quinoa, foram preparados mostos com diferentes proporções de malte e quinoa malteada, em conformidade ao estabelecido pela legislação brasileira, que limita em 45% a substituição do malte por adjuntos malteados ou não, para que a bebida seja considerada cerveja.

Primeiramente elaborou-se mosto contento quinoa malteada na proporção de 10% em massa. Após a mosturação e inativação das enzimas, quando se iniciou o processo de recirculação, observou-se que a clarificação/filtração do mosto estava bastante dificultada. Isso pode ter sido devido a elevada viscosidade do amido de quinoa, conforme relatado por Bhargava et al. (2006) e que segundo Ahamed et al. (1996), quando proporções acima de 5% em massa estão presentes no meio, quando comparado a outras fontes de amido como cevada, trigo, entre outros, a viscosidade é elevada.

Bryce et al. (2010), tendo estudado diferentes métodos de maceração para produção de malte utilizando cevada, verificaram que tempos de maceração de 8 e 16 horas geraram mostos com maiores viscosidades, quando comparados com os mostos elaborados com malte produzido com cevada macerada por 24 horas.

Com base no exposto acima, verificou-se a necessidade de alteração no processo de mosturação, conforme apresentado na Tabela 12, adotando-se condição de mosturação de dois passos (MDP), objetivando-se facilitar o processo de clarificação/filtração do mosto, visto que o processo de malteação da quinoa já havia sido realizado.

Tabela 12 – Adaptação da condição de mostura por infusão simples para mosturação de dois passos.

Enzimas	Temperaturas ótimas (ºC)	Tempo de ação (min.)	Função
Endopeptidases	52	30	Hidrólise das proteínas em produtos intermediários de alto e médio peso molecular
α-amilase	72	30	Hidrólise do amido em dextrinas inferiores pela hidrólise das ligações α,1→4
Finalização	78	10	Inativação das enzimas

Essa modificação no processo de mosturação também foi aplicada na elaboração de mosto puro malte, como condição controle, sendo seu perfil de fermentação apresentado na Figura 21.

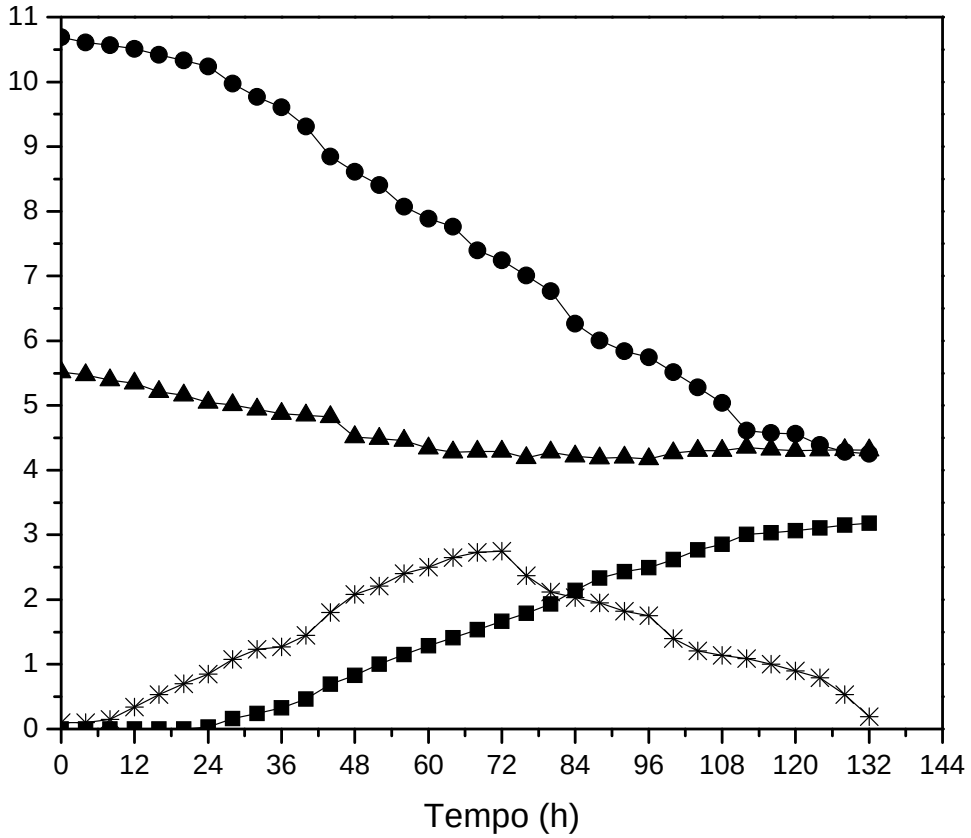

Figura 21 – Perfil da fermentação de mosto puro malte elaborado sob condição de mosturação de dois passos. (●) Extrato Aparente (ºP); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH; (✳) Células em Suspensão (10^8/mL).

Comparando-se as Figuras 15 e 21, observa-se que os perfis de consumo de extrato, de formação de álcool e redução de pH, durante a fermentação, apresentam comportamento semelhante nas duas condições de mosturação avaliadas, constatando-se que o número máximo de células em suspensão, para as condições estudadas, é atingido entre 60 e 72 horas.

Conforme pode ser observado na Figura 22, o tempo de fermentação de mosto puro malte elaborado sob condição de mosturação de dois passos foi maior que aquele observado para mosto elaborado por infusão simples, e menor do que aquele produzido sob condição padrão de mosturação. Na Figura 23, o aumento da atenuação aparente fica evidente quando a mosturação foi realizada sob condição padrão de mosturação.

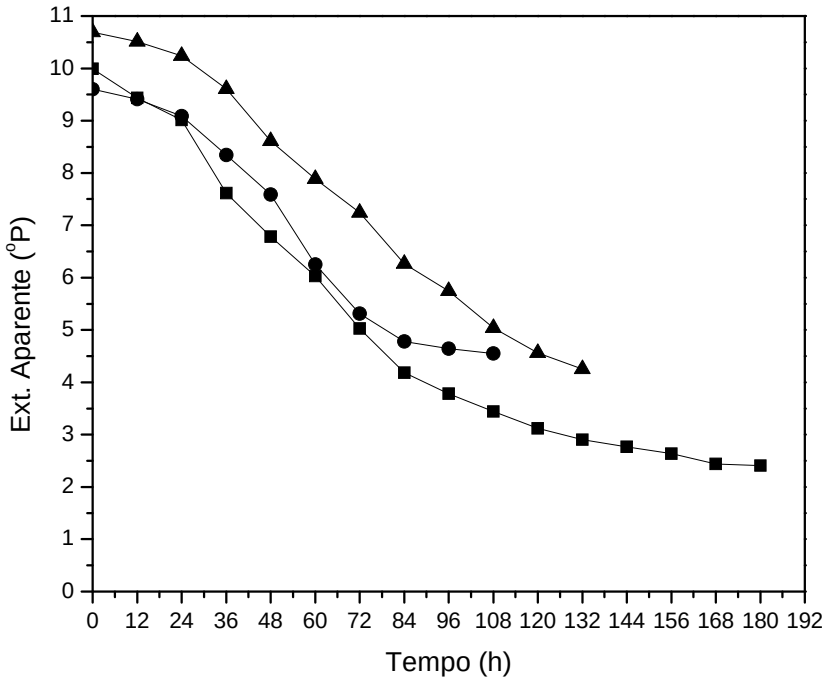

Figura 22 – Perfil de concentração de extrato aparente, observado na fermentação de mostos obtidos sob diferentes condições de mosturação. (■) Condição padrão; (●) Infusão simples; (▲) Mosturação de dois passos.

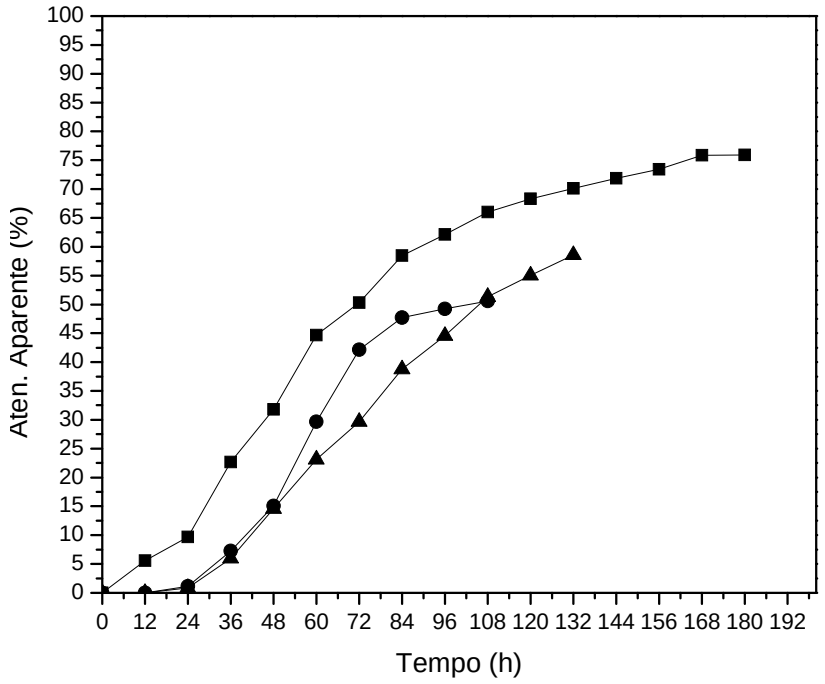

Figura 23 – Representação gráfica da atenuação aparente observada na fermentação de mostos obtidos sob diferentes condições de mosturação. (■) Condição controle; (●) Infusão simples; (▲) Mosturação de dois passos.

Esse perfil de atenuação aparente pode ser devido ao maior teor de extrato fermentescível obtido durante a brassagem, conforme pode ser verificado na Figura 23, na qual se observou aproximadamente 60% de atenuação para mosturação de dois passos, e 50% para infusão simples, enquanto que a atenuação aparente para o processo de mosturação controle foi muito superior, alcançando 75,9%.

A Tabela 13 apresenta os valores dos parâmetros avaliados durante o processo fermentativo de mostos elaborados por infusão simples, mosturação em dois passos e na condição padrão de mosturação.

Tabela 13 – Parâmetros fermentativos de mostos puro malte elaborados sob diferentes condições de mosturação: Infusão Simples, Mosturação de Dois Passos (MDP) e Controle.

Parâmetro	E.O (ºP)	Et.OH (%v/v)	E.A (%m/m)	A.A (%)	pH	Tempo (h)
Padrão	10,02	[a]4,04±0,02	2,41±0,01	75,9±0,01	4,52±0,03	180
Infusão Simples	9,60±0,01	[b]2,48±0,02	4,55±0,02	50,59±0,01	4,20±0,02	108
MDP	10,69±0,01	[b]3,18±0,01	4,26±0,02	58,56±0,01	4,31±0,01	132

[a,b]Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de 5% de confiança, segundo teste de Tukey.

Na literatura, Kunze (1996); Tschope (2001) e Brányik et al. (2012) relatam que a formação de álcool na fermentação de mosto cervejeiro esta ligada à ação das amilases (β – hidrólise do amido em maltose, e α – degradação do amido em dextrinas) que atuam entre 62ºC e 72ºC, que são as temperaturas ótimas, respectivamente. Porém, analisando-se a Tabela 13, é possível observar que a utilização de diferentes condições de mosturação afeta a formação de álcool, havendo diferença significativa ($p<0,05$), sugerindo-se que as amilases podem atuar em diferentes temperaturas de mosturação, mesmo estas condições não sendo consideradas ótimas, conforme relatado por Tschope (2001), como mostrado anteriormente na Tabela 5, podendo também influenciar a formação de álcool se o tempo de ação dessas enzimas for estendido durante a mosturação, segundo relata Kunze (1996).

Quando foram elaborados mostos contendo proporções acima de 10% em massa de quinoa malteada, observou-se que a filtração voltou a ser dificultada, de acordo com o relato de Meo et al. (2011), que observaram que a filtração de mosto elaborado com quinoa malteada foi dificultada, devido a sua elevada viscosidade.

Esse problema verificado na filtração pode também ser devido a diminuição da espessura da camada filtrante composta pela casca do malte, visto que o malte foi

substituído pela quinoa malteada, e esta teve sua casca totalmente triturada, juntamente com todo o grão, para obtenção da farinha com granulação de 60 *mesh*, conforme adaptado de Venegas (2007).

Conforme citado por Goode e Arendt (2003), na elaboração de mosto cervejeiro contendo sorgo como adjunto, verifica-se a existência de problemas no processo de filtração, durante a clarificação/filtração, visto que o sorgo não possui casca.

Neste trabalho, verificou-se a necessidade de quebrar a torta formada durante a filtração e também durante a lavagem dos grãos, para se obter mostos elaborados com proporções de quinoa malteada acima de 10%. Depois de obtidos os mostos, as fermentações foram conduzidas, sendo observados os perfis de formação de álcool na Figura 24, obtidos a partir de mostos contendo diferentes proporções de quinoa malteada, contatando-se que foram semelhantes, excetuando-se o tempo para término do processo.

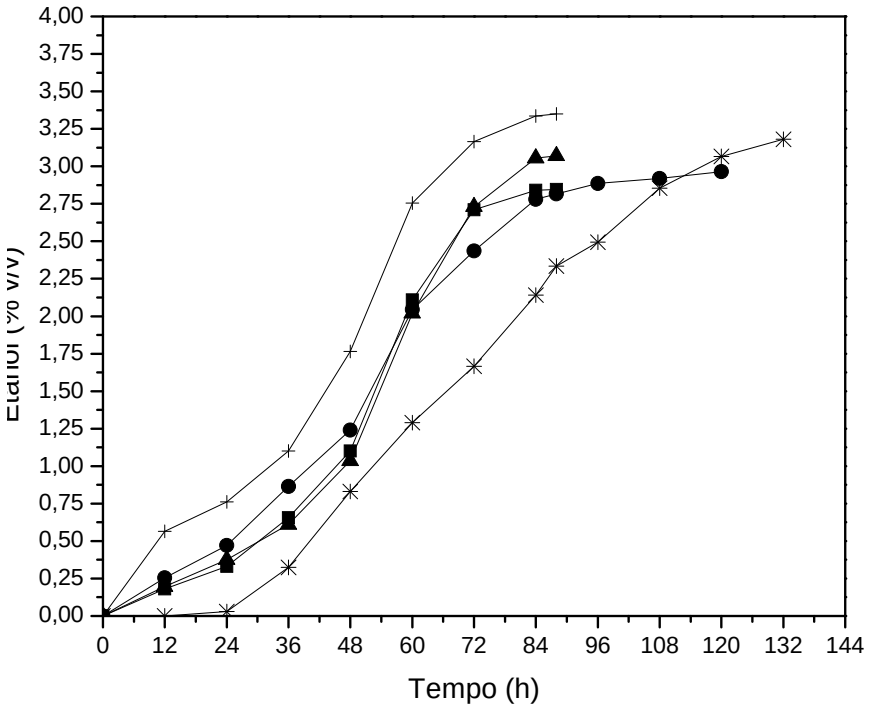

Figura 24 – Perfil de formação de etanol durante a fermentação de mostos elaborados sob condição de mosturação de dois passos, utilizando diferentes proporções de malte/quinoa malteada como adjunto. (✳) 100%/0%; (●) 90%/10%; (▲) 80%/20%; (■) 70%/30% e (+) 55%/45%.

Como pode ser observado na Tabela 14, a produção em etanol não apresentou diferença significativa ($p<0,05$), podendo também ser verificado que o pH final foi semelhante para as diferentes condições de obtenção das bebidas, sugerindo-se que a elaboração de mostos contendo quinoa malteada como adjunto possibilita a obtenção de

cervejas com características semelhantes, quando comparadas àquela produzida utilizando-se somente malte.

Tabela 14 – Teor de etanol e do pH observados ao final das fermentações de mostos elaborados com diferentes proporções de malte e quinoa malteada.

Parâmetro	Porporção Malte/Quinoa Malteada (%)				
	100/0	**90/10**	**80/20**	**70/30**	**55/45**
Etanol (%v/v)	[a]3,18±0,01	[a]2,97±0,007	[a]3,07±0,014	[a]2,85±0,007	[a]3,35±0,01
pH	4,31±0,01	4,53±0,01	4,53±0,01	4,54±0,01	4,54±0,007

[a]Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de 5% de confiança, segundo teste de Tukey.

De acordo com Sohrabvandi et al. (2010), as cervejas com teor considerado normal, em etanol, possuem por volta de 5% em volume, e as cervejas com baixos teores de etanol contém aproximadamente de 2% a 3% v/v desse composto, sugerindo-se que as bebidas obtidas neste trabalho, utilizando quinoa malteada como adjunto, podem ser classificadas como bebidas com baixo teor de etanol.

Apesar do perfil de formação de etanol, consumo de extrato, redução de pH e número de células em suspensão ter sido semelhante, observou-se redução do tempo de fermentação com os diferentes mostos obtidos (Tabela 15).

Tabela 15 – Tempo de fermentação dos diferentes mostos obtidos utilizando diferentes porporções (%m/m) de Malte/Quinoa Malteada.

Proporção Malte/Quinoa Malteada (%/%)	Tempo de Fermentação (h)
100/0	[a]132
90/10	[a]120
80/20	[a]88
70/30	[a]88
55/45	[a]88

[a]Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de 5% de confiança, segundo teste de Tukey.

Mesmo não havendo diferença significativa ($p<0,05$) na redução dos tempos dos processos observados neste trabalho, esse comportamento com relação à redução no tempo de fermentação pode ser devido ao maior teor de aminoácidos essenciais presentes na quinoa, em especial a lisina (HUNT et al. 2002; GELY; SANTALLA, 2007; FAO 2013; CASTRO et al. 2007), que pode ter afetado a fermentação. De fato foi relatado por Lekkas et al. (2007), que redução do tempo de fermentação de 96 horas no mosto controle e de 48

horas para o mosto suplementado com lisina, sugerindo que este aminoácido tem papel fundamental no desenvolvimento celular, porém não está claro como isso aconteceu.

A Tabela 16 apresenta os teores de aminoácidos livres antes e após a fermentação para os diferentes mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto, sob condição de mosturação de dois passos.

Tabela 16 – Teor de aminoácidos livres (FAN) (mg/L) presentes em mostos elaborados com diferentes porporções (%m/m) de Malte/Quinoa Malteada.

Proproção Malte/Quinoa Malteada	Inicial (mg/L)	Final (mg/L)
100/0	[a]133,62±1,72	[c]35,89±0,98
90/10	[a]141,46±1,48	[c]38,76±1,11
80/20	[a]148,26±2,22	[c]39,55±2,71
70/30	[a]152,79±2,22	[d]46,34±0,49
55/45	[b]177,18±11,58	[d]52,09±2,71

[a,b,c,d]Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de 5% de confiança, segundo teste de Tukey.

Como pode ser observado na Tabela 16, o teor de aminoácidos livres aumenta conforme é aumentada a quantidade de quinoa malteada como adjunto, constatando-se que a condição de 45% de adjunto apresentou diferença significativa ($p<0,05$), no momento inicial da fermentação, sugerindo que a quinoa malteada é uma boa fonte de nutrientes para processos fermentativos de produção de cervejas. O teor final de aminoácidos livre também foi mais elevado conforme se aumentou a quantidade de quinoa malteada utilizada, apresentando diferença significativa ($p<0,05$) paras as proporções de 30% e 45% de adjunto.

Meo et al. (2011) verificaram que elevados teores de aminoácidos livres foram liberados, quando quinoa malteada foi utilizada para produção de mosto cervejeiro, corroborando com os dados observados neste trabalho, que demonstram que quanto maior a proporção de quinoa malteada utilizada como adjunto, maior é o teor de aminoácidos livres presentes no mosto, sugerindo que este adjunto pode ser explorado como fonte de nutrientes para produção de cervejas.

Com base nos teores de extrato, de nitrogênio solúvel e de proteína, estabelecidos pela análise de caracterização do malte de quinoa, foram estimados por cálculo os teores dos parâmetros citados nas diferentes proporções de malte/quinoa malteada.

De acordo com a Tabela 17, estimou-se que os teores de proteína e de extrato aumentaram, conforme aumentou a proporção de quinoa malteada utilizada, porém o teor de nitrogênio solúvel diminuiu.

Tabela 17 – Teores (base seca) dos parâmetros estimados com bases na caracterização realizada pela Malteria do Vale da quinoa malteada.

Parâmetros	Proporção Malte/Quinoa Malteada					
	100/0*	**90/10+**	**80/20+**	**70/30+**	**55/45***	**0/100+**
Extrato	82,4%	82,8%	83,2%	83,6%	84,2%	86,4%
Proteína	10,1%	10,4%	10,7%	11,0%	11,3%	13,0%
Nitrogênio Solúvel	745mg/L	741mg/L	737mg/L	732mg/L	726mg/L	703mg/L

*Medido; +Estimado

A diminuição do teor de nitrogênio solúvel pode ter sido influenciada tanto pelo processo de malteação, quanto pelo processo de mosturação. Tal fato também foi ralatado por Meo et al. (2011), ao avaliarem a aplicação de diferentes pseudo-cereais, como a quinoa, o amaranto, trigo sarraceno, para a produção de mostos cervejeiros, tendo avaliado a condição de maceração normal e com solução alcalina, em diferentes processos de mosturação, utilizando processo simplificado, com diferentes temperaturas, bem como a aplicação do processo de decocção.

Klose et al. (2011) verificaram que o teor de nitrogênio solúvel foi afetado pelo processo de mosturação, tendo relatado que o número de passos com diferentes temperaturas, bem como o tempo que cada temperatura é utilizada, afetou a obtenção de nitrogênio solúvel no mosto.

5.4 Análise da Estabilidade de Espuma

A estabilidade da espuma é um fator importante na compreensão de qualidade da cerveja (EVANS; BAMFORTH, 2009).

Neste trabalho, verificou-se que houve aumento na retenção da espuma apenas quando mosto puro malte foi utilizado para a produção de cerveja, comparado à amostra comercial, obtendo-se valores Sigma de 128 para cerveja comercial e de 155 para cerveja puro malte. Quando quinoa malteada foi utilizada como adjunto em diferentes proporções, constatou-se que a estabilidade da espuma das diferentes amostras avaliadas foi fortemente

afetada, constatando-se variação de Sigma entre 104 a 6, conforme foi aumentada a proporção de quinoa malteada, de 10 a 45% em massa, respectivamente, havendo diferença significativa ($p<0,05$) entre as amostras avaliadas.

A Figura 25 apresenta a variação da estabilidade de espuma para as diferentes bebidas produzida, sendo comparadas com uma amostra de cerveja comercial.

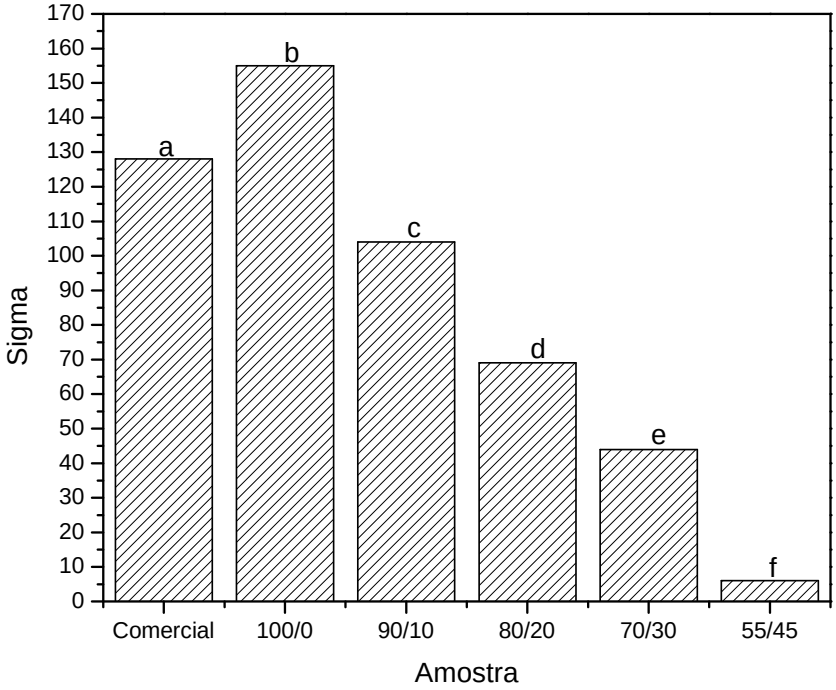

Figura 25 – Análise de estabilidade de espuma (Sigma) de bebidas com diferentes proporções de Malte/Quinoa Malteada, comparadas à amostra de cerveja comercial. [a,b,c,d,e,f] Letras iguais correspondem a médias estatisticamente iguais, ao nível de 5% de confiança, segundo teste de Tukey.

Segundo Swistowicz (1978), a faixa ideal dos valores de Sigma para retenção de espuma deve estar compreendida entre 110 e 130. Já Associación Latinoamericana de Fabricantes de Cerveza (1999), considera valores maiores de 125 como sendo bons e menores de 110 como sendo ruins.

A estabilidade da espuma pode ter sido afetada pela proporção de lipídeos presentes na quinoa. De acordo com Nascimento et al. (2014), a quinoa apresenta proporção de aproximadamente 6% em massa de lípideos, enquanto outros cereais, utilizados como adjuntos, como milho e arroz apresentam, 1,8% e 0,6% em massa, respectivamente.

Conforme citam Evans e Bamforth (2009), compostos hidrofóbicos como lipídeos, por exemplo, afetam a estabilidade da espuma por um mecanismo chamado de "mecanismo de partículas hidrofóbicas", causando a ruptura do filme de uma bolha (Figura

26), iniciando rapidamente a coalescência dessas bolhas, que se tornarão maiores, e menos estáveis, consequentemente menos atraentes.

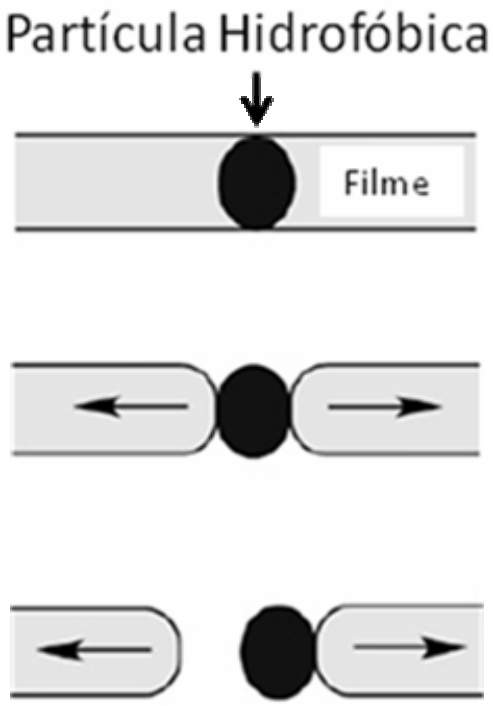

Figura 26 – Esquema da atuação de uma partícula hidrofóbica sobre o filme da bolha, causando o rompimento desse filme e comprometendo a estabilidade da espuma da cerveja. Fonte: adaptado de EVANS e BAMFORTH (2009).

Apesar de ter sido observado que a espuma das bebidas elaboradas contendo quinoa malteada como adjunto não foi estável, constatou-se que a impressão global das diferentes amostras dessas bebidas obteve notas comparáveis àquela obtida pela amostra de cerveja comercial (item 5.5), sugerindo que esta característica (espuma) não afetou a percepção de qualidade das amostras, pelos avaliadores.

5.5 Análse Sensorial

Após ser observado que o perfil das diferentes fermentações de mostos puro malte e contendo quinoa malteada como adjunto foram semelhantes, as diferentes bebidas foram avaliadas sensorialmente, sendo comparadas a uma amostra de cerveja de marca comercial adquirida no mercado local.

As análises foram divididas em quatro dias, da seguinte forma:

- Dia 1: comercial + puro malte + 20% quinoa malteada;

- Dia 2: comercial + puro malte + 30% quinoa malteada;
- Dia 3: comercial + puro malte + 10% quinoa malteada;
- Dia 4: comercial + puro malte + 45% quinoa malteada.

Participaram da avaliação 262 provadores, com uma média de aproximadamente 66 provadores por dia. Para as amostras comerciais e puro malte foram calculadas as médias considerando-se todos os dias de análises. Na Tabela 18 podem ser observadas as avaliações das diferentes bebidas obtidas, com relação a aceitação das amostras.

Tabela 18 – Notas de aceitação das diferentes bebidas obtidas, puro malte e com diferentes proporções de malte/quinoa malteada, comparadas a uma amostra de cerveja comercial produzida em massa.

Aceitação	Impressão Global	Intenção de Compra	Amostra
	^{a}6,62±1,21	^{b}3,49±0,92	***Comercial***
	^{a}6,55±1,26	^{b}3,31±0,97	***100%/0%***
Nota	^{a}6,42±1,58	^{b}3,28±1,00	***90%/10%***
	^{a}6,40±1,49	^{b}3,37±1,03	***80%/20%***
	^{a}6,23±1,57	^{b}3,14±1,18	***70%/30%***
	^{a}6,23±1,67	^{b}3,06±1,15	***55%/45%***

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

Como pode ser observado, a aceitação das bebidas elaboradas utilizando-se quinoa malteada como adjunto, em diferentes proporções, compreendeu-se entre "gostei ligeiramente" e "gostei moderadamente", da mesma forma que para cervejas puro malte e de marca comercial, sugerindo boa aceitação das bebidas produzidas, não havendo diferença significativa ($p<0,05$) entre todas as amostra provadas, com relação a impressão global das amostras avaliadas.

No que diz respeito à intenção de compra, todas as amostras avaliadas, cervejas contendo quinoa malteada como adjunto, puro malte e a marca comercial, tiveram sua intenção de compra declarada entre "tenho dúvidas se compraria" e "provavelmente compraria", não havendo diferença significativa entre as amostra avaliadas.

Carvalho (2009) produziu cerveja contendo banana em sua formulação, visando adição de aroma e do sabor da fruta na bebida, avaliou a aceitação de cerveja, constatando que esta foi bem aceita quando comparada a uma amostra de cerveja comercial.

Da mesma forma, Santos (2011), elaborou cerveja contendo arroz preto como adjunto e constatou que a aceitação da cerveja avaliada foi boa, observando aceitação de

aproximadamente 70% dos provadores, estando compreendida entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”.

Segundo a Associação Brasileira de Bebidas, o mercado cervejeiro, em especial o de microcervejarias, encontra-se em expansão, motivada pela busca de satisfação sensorial por parte dos consumidores (ABRABE, 2014), sugerindo-se que os adjuntos não convencionais, como a quinoa malteada, podem ser explorados no desenvolvimento diferentes tipos de cervejas e de novas tecnologias, para este setor.

Na Figura 27 pode ser observada a aparência das diferentes bebidas avaliadas sensorialmente.

Figura 27 – Aspecto das diferentes bebidas obtidas com diferentes proporções de malte/quinoa malteada, comparada a uma amostra comercial. Da esquerda para a direita: 100%/0%; 90%/10%; 70%/30% e 55%/45%.

Na produção de mostos contendo quinoa malteada como adjunto, para estudo dos processos fermentativos, o processo de quebra da torta filtrante, no momento de produção do mosto, acarretou aumento na turbidez da bebida pronta, como pode ser observado na Figura 27, porém sem afetar sua aceitação, quando comparada a uma amostra de cerveja comercial, como apresentado na Tabela 18.

5.6 Produção em Escala Piloto

Tendo sido constatada boa aceitação das bebidas obtidas, optou-se por ampliar a escala de produção de cerveja contendo 45% em massa de adjunto, conforme limite estabelecido pela legislação vigente, uma vez que não houve diferença significativa ($p<0,05$) de aceitação (impressão global e intenção de compra), entre as amostras contendo quinoa malteada em diferentes proporções. O mosto foi produzido nas mesmas condições

aplicadas para a condição estudada anteriormente em escala de bancada, e a fermentação foi realizada em reator cilíndrico de plástico alimentício, com volume de 200L, a 12ºC. A Figura 28 apresenta o perfil da fermentação em escala piloto.

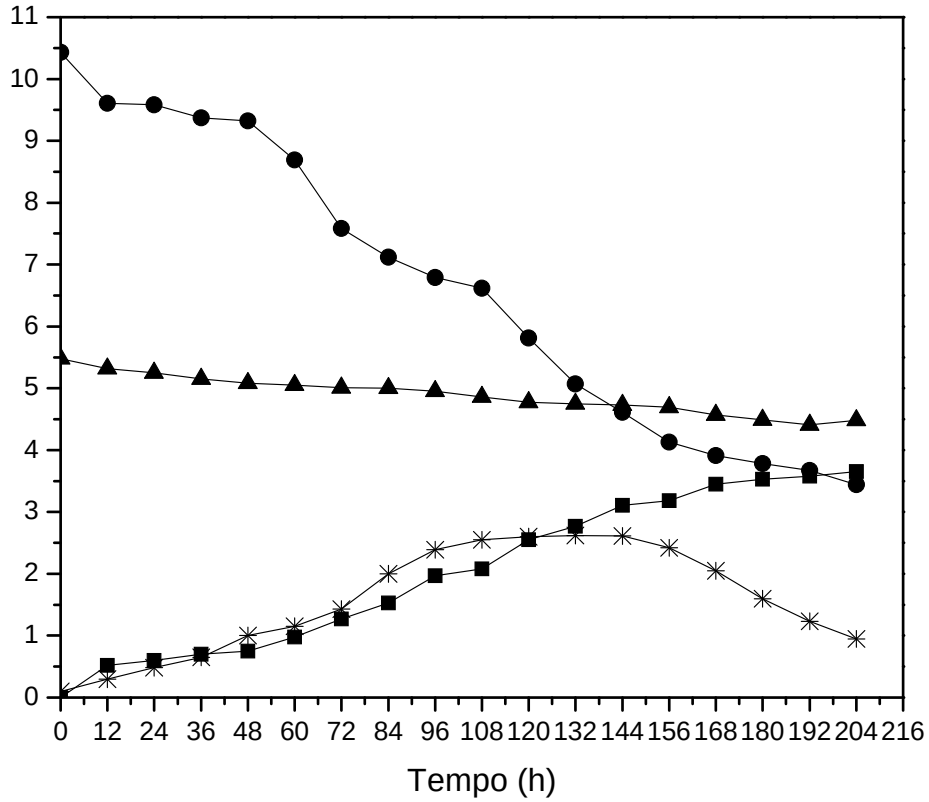

Figura 28 – Perfil da fermentação em escala piloto de mosto elaborado contendo quinoa malteada em proporção de 45% em massa como adjunto. (●) Extrato Aparente (ºP); (■) Álcool (%v/v); (▲) pH; (✳) Células em Suspensão (10^8/mL).

Conforme pode ser verificado na Figura 28, o tempo de fermentação de mosto elaborado em escala piloto, contendo quinoa malteada na proporção 45% em massa, como adjunto, foi de 204 horas, observando-se que o teor de álcool produzido foi de 3,65% v/v e que o número máximo de células em suspensão foi de aproximadamente $2{,}62\times10^8$cél/mL.

Com esses resultados, efetuou-se a comparação da fermentação em escala piloto com a fermentação em escala de bancada, de mosto elaborado contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa.

A **Figura 29** apresenta o tempo de processo e consumo de extrato pela levedura, para os mostos contendo quinoa malteada na proporção de 45%, das fermentações em escala de bancada e piloto.

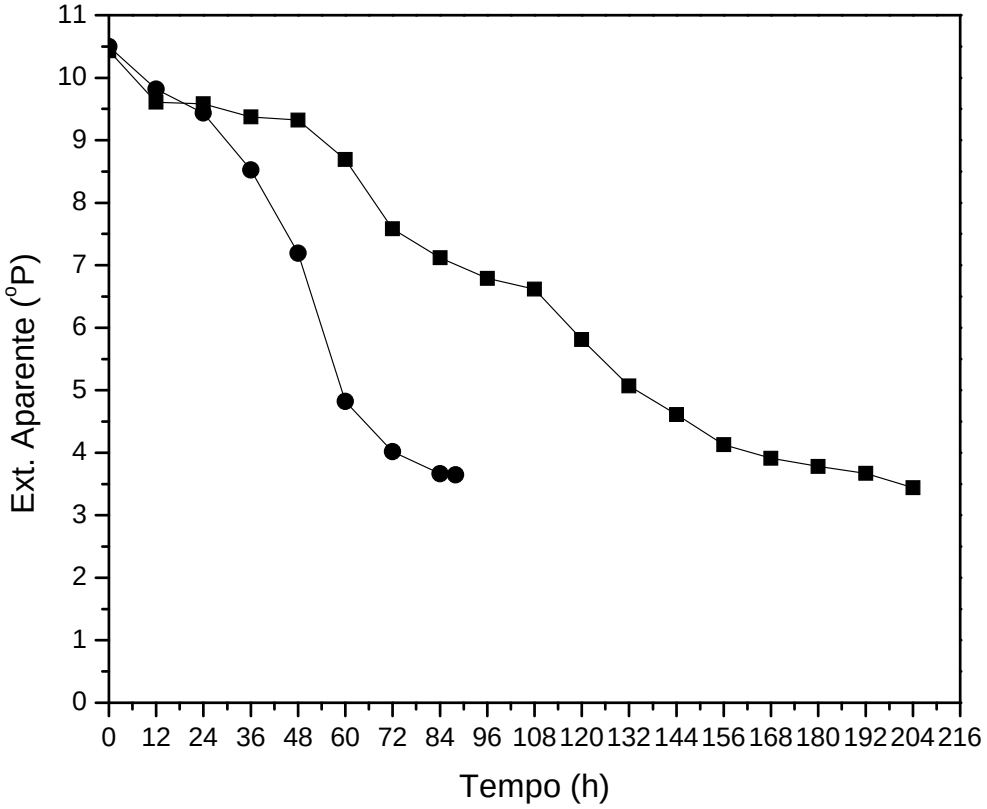

Figura 29 – Comparação da concentração de extrato aparente de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa, em escala de bancada (10L) (●) e escala piloto (200L) (■).

Como pode ser verificado na Figura 29, o tempo de fermentação em escala piloto foi muito superior ao tempo de fermentação em escala de bancada, havendo diferença significativa ($p<0,05$). Porém, fica evidente que o perfil de consumo de extrato pela levedura foi semelhante para ambos os processos, observando-se que o término das fermentações ocorreu no momento em que a concentração de extrato aparente foi de aproximadamente 3,6ºP, não tendo sido observada diferença significativa ($p<0,05$) para este parâmetro.

Goode e Arendt (2003) avaliaram o comportamento de consumo de substrato pela levedura em fermentação em escala piloto de mosto elaborado contendo 50% de sorgo não malteado como adjunto, tendo observado que o processo durou 192 horas, tempo semelhante ao observado neste trabalho, utilizando-se quinoa malteada na proporção de 45%.

Analisando-se o consumo de substrato, pode ser sugerido que a formação de etanol pela levedura também foi semelhante. A

Figura **30** apresenta o perfil de formação de etanol durante os processos.

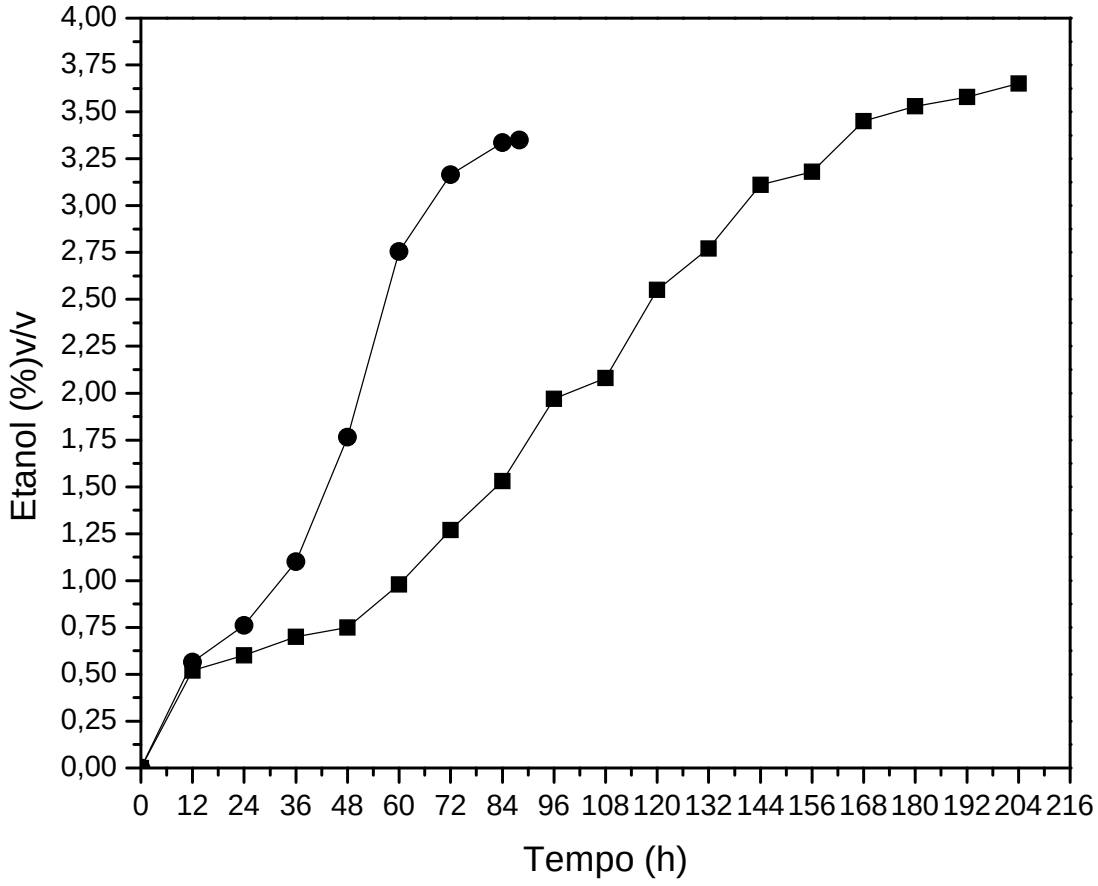

Figura 30 – Comparação da formação de etanol na fermentação de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa, em escala de bancada (10L) (●) e escala piloto (200L) (■).

Verifica-se na Figura 30 que o teor de etanol formado nas diferentes escalas de produção foi semelhante, tendo finalizado com o teor desse composto em torno de 3,35±0,014% v/v para a fermentação realizada em escala de bancada, e de 3,58±0,028% v/v para a fermentação realizada em escala piloto, não tendo sido constatada diferença significativa ($p<0,05$) entre os processos analisados.

Com relação ao pH, verifica-se que o perfil de redução durante o processo foi semelhante, sendo mais rápido para a fermentação realizada em escala de bancada que levou 88 horas para finalização, conforme apresentado na Figura 31.

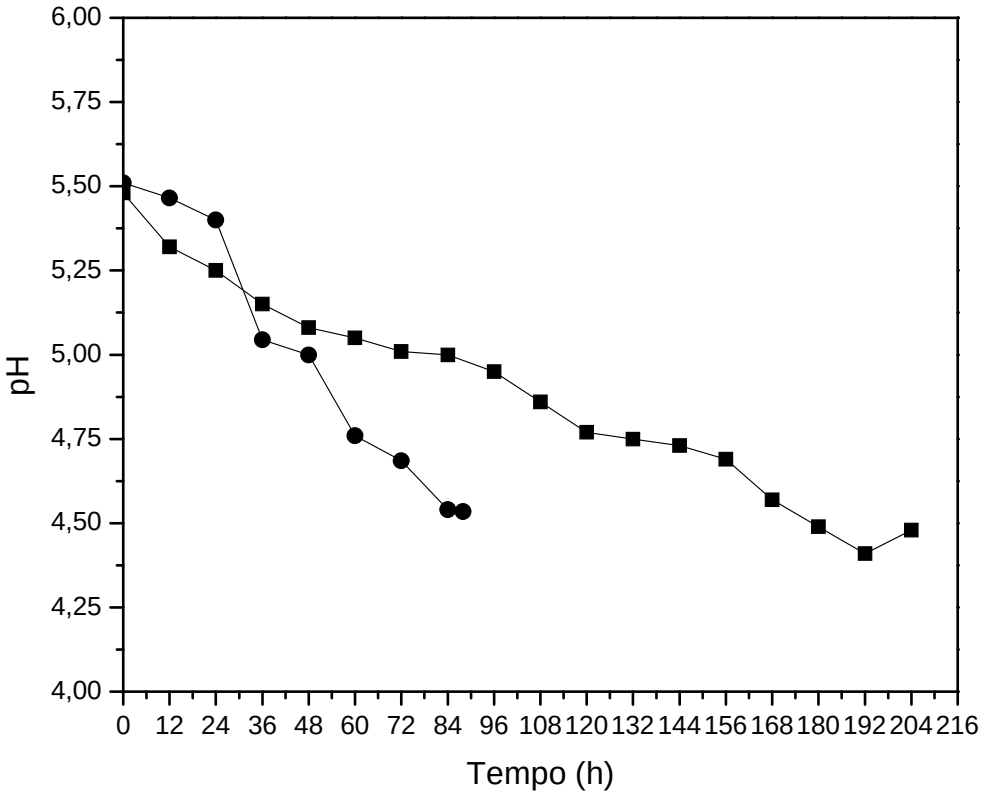

Figura 31 – Comparação do perfil de pH na fermentação de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa, em escala de bancada (10L) (●) e escala piloto (200L) (■).

De acordo Manzano et al. (2005), a faixa ideal de pH das cervejas fica entre 3,8 e 4,7, podendo ser verificado que o pH dos experimentos de fermentação de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto, na proporção de 45% em massa, tanto em escala de bancada (10L), quanto em escala piloto (200L), finalizou em aproximadamente 4,5, não tendo sido observada diferença significativa ($p<0,05$). Goode e Arendt (2003) verificaram que o pH final da fermentação, de mosto contendo 50% em massa de sorgo não malteado como adjunto, foi de aproximadamente 4,3, sendo corroborado com o observado neste trabalho para fermentação de quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa.

O número máximo de células em suspensão em ambas as fermentações também foi semelhante, podendo ser sugerido que nos diferentes processos a levedura possuía condições nutricionais necessárias para desenvolvimento do processo.

A Figura 32 apresenta o perfil do número de células em suspensão ao longo do processo. Verifica-se um decaimento ao final da fermentação, característica típica de

processos cervejeiros, conforme relatado por Munroe (2006), e isto vem corroborar com os dados observados por Andrés-Toro et al. (1998), que desenvolveram modelos matemáticos para o processo de produção de cerveja em condições industriais.

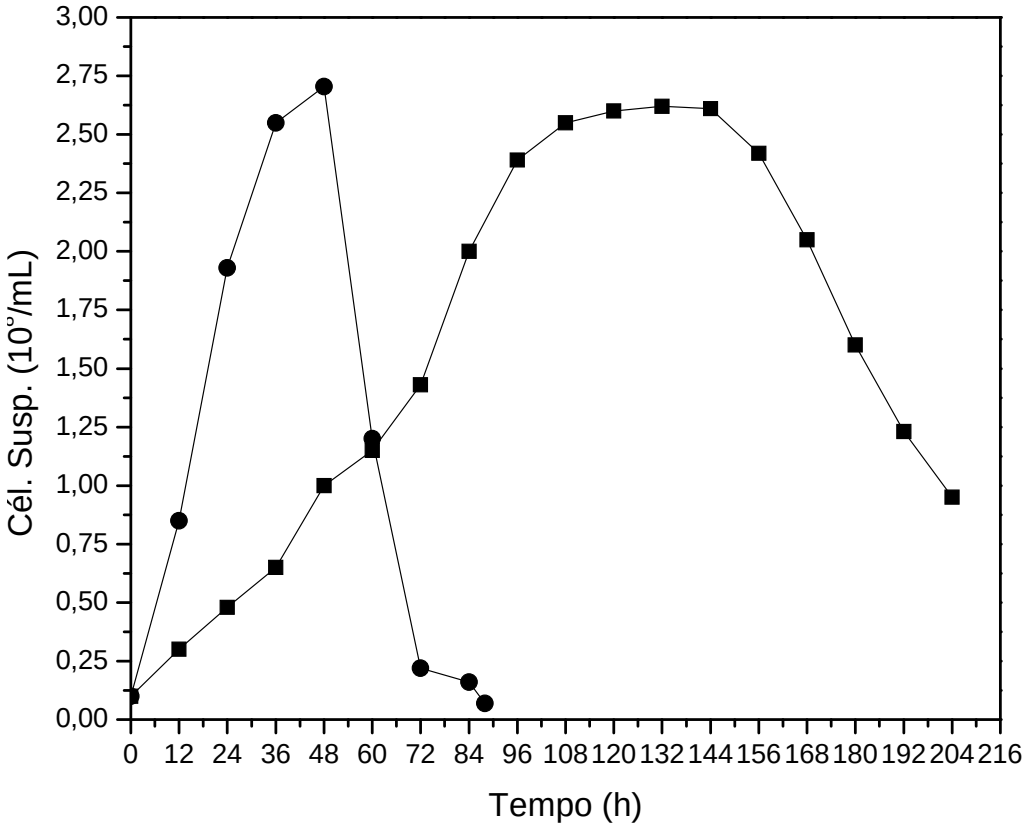

Figura 32 – Comparação do perfil do número de células em suspensão na fermentação de mostos elaborados contendo quinoa malteada como adjunto na proporção de 45% em massa, em escala de bancada (10L) (●) e escala piloto (200L) (■).

Goode e Arendt (2003) observaram que o número máximo de células em suspensão, durante a fermentação de mosto elaborado contendo sorgo não malteado como adjunto, e comparado com a fermentação de mosto puro malte, foi de $5{,}9\times10^{7}$ células/mL e $0{,}64\times10^{8}$ células/mL, respectivamente. Os autores, porém não especificaram qual foi a concentração inicial de células utilizada para a produção das cervejas estudadas.

Neste trabalho, utilizando-se quinoa malteada como adjunto, na proporção de 45% em massa, o número máximo de células em suspensão para a condição de escala de bancada foi de $2{,}7\times10^{8}$ células/mL, enquanto a condição de escala piloto foi, $2{,}62\times10^{8}$ células/mL.

5.7 Determinaçao de Parâmetros Cinéticos das Fermentações

Após a realização das fermentações, tanto em escala de bancada, quanto em escala piloto, foram calculados os parâmetros cinéticos das fermentações e apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 – Comparação dos parâmetros cinéticos das fermentações realizadas em escala de bancada e em escala piloto.

Condição Mosturação (Puro Malte)	**$Y_{P/S}$ (g/g)**
Controle	0,40
Infusão Simples	0,37
Mosturação de Dois Passos	0,37
Proporção Malte/Quinoa Malteada	**$Y_{P/S}$ (g/g)**
100/0	0,37
90/10	0,38
80/20	0,36
70/30	0,36
55/45	0,37
55/45 (Piloto)	0,39

É possível observar que os fatores de rendimento de substrato em etanol foram semelhantes para todas as condições avaliadas, sugerindo-se que a quinoa pode ser explorada como adjunto na produção de cervejas, corroborando com os dados observados por Santos (2011), que observou que o fator de rendimento da fermentação em escala piloto para produção de cerveja contendo arroz preto como adjunto, na proporção de 45% em massa, foi de 0,37g/g.

6 CONCLUSÕES

- A utilização de diferentes condições de mosturação possibilita obtenção de diferentes teores de etanol, sugerindo que as enzimas presentes no malte podem atuar em diferentes temperaturas, sem que estas sejam suas respectivas condições ótimas;
- Entre as leveduras avaliadas, todas apresentaram capacidade fermentativa semelhante tanto nos mostos puro malte, quanto nas condições de mosturação avaliadas;
- O teor de extrato fermentescível alterou o tempo de fermentação dos processos, sendo mais longo para os processos nos quais os maiores teores de etanol foram obtido;
- As condições de mosturação avaliadas, não alteraram os valores dos parâmetros analisados como pH e células em suspensão, para as diferentes leveduras testadas;
- Na produção de malte de quinoa, a germinação pode ter sido afetada pelas condições utilizadas, sugerindo que diferentes condições de malteação devem ser avaliadas;
- A utilização de quinoa malteada como adjunto pode ser explorada, necessitando-se adequação das condições de clarificação/filtração, a fim de se facilitar a obtenção de mosto clarificado;
- A utilização de quinoa malteada como adjunto, nas diferentes proporções avaliadas, possibilitou a obtenção de mostos com características físico-químicas semelhantes aos mostos puro malte, como extrato recuperado, extrato fermentescível, pH, entre outras, sugerindo que este adjunto pode ser explorado em processos cervejeiros;
- A utilização de quinoa malteada como adjunto, em diferentes proporções, possibilitou a obtenção de mostos com maiores concentrações de aminoácidos livres, quando comparadas ao de mosto puro malte;
- Mostos contendo quinoa malteada como adjunto podem ter fornecido melhores condições nutricionais para a levedura durante a fermentação, ocasionando redução no tempo de fermentação, quando comparados com o mosto puro malte;

- O aumento da proporção de quinoa malteada utilizada como adjunto afetou fortemente a estabilidade da espuma das diferentes bebidas avaliadas, sugerindo-se que esse adjunto deve ser mais bem estudado com relação a este parâmetro;
- A aceitação das bebidas elaboradas utilizando-se quinoa malteada como adjunto foi semelhante a amostra de cerveja puro malte e também a amostra comercial, sugerindo que esse pseudo-cereal pode ser aplicado na obtenção de bebidas;
- A produção em escala piloto apresentou comportamento semelhante no que diz respeito a elaboração do mosto e suas características físico-químicas, como extrato recuperado, extrato fermentescível, pH;
- O rendimento em etanol, para os diferentes mostos obtidos, foi semelhante para as diferentes composições testadas, sugerindo que a utilização de quinoa malteada pode ser empregada para obtenção de bebidas com características físico-químicas semelhantes àquelas encontradas comercialmente;
- A utilização de adjuntos não convencionais, como a quinoa malteada, na produção de cervejas, pode ser explorada, objetivando-se o desenvolvimento de novos produtos e tecnologias para o mercado cervejeiro, motivada pela busca por parte dos consumidores de satisfação sensorial e favorecida pela melhoria na renda da população brasileira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Associação Brasileira de Bebidas. **Mercado**. Disponível em http://www.abrabe.org.br/. Acesso em 03 de fevereiro de 2014.

AGU, R. C. A comparison of Maize, Sorghum and Barley as Brewing Adjuncts. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 1, p. 19–22, 2002.

AHAMED, N. T.; SINGHAL, R. S.; KULKAMI, P. R.; PALB, M. Physicochemical and functional properties of *Chenopodium qrcinoa* starch. **Carhohydrate Polymers**, v. 31, p. 99-103, 1996.

AIZEMBERG, R.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Preliminary assessment of water quality to be used in the brewing process. In: BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOOD AND BEVERAGES, 2012. Araraquara – SP. **Anais.** UNESP, 2012. p. 70.

ASSOCIACIÓN LATINO AMERICANA DE FABRICANTES DE CERVEZA. **Métodos de Análisis Cerveceros**. 3ª ed. Caracas, Venezuela: Alaface, 1999. 272 p.

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

ALMEIDA, P.L.; GANDOLFI, L.; MODELLI, I.C.; MARTINS, R.C.; ALMEIDA, R.C. PRATESI, R. Prevalence of celiac disease among first degree relatives of Brazilian celiac patients. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 45, n. 1, p. 69-72, 2008.

ALVAREZ-JUBETE, L.; ARENDT, E. K.; GALLAGHERA, E. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten free ingredients. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, p. 106-113, 2010.

ANDERSON, R. History of Industrial Brewing. In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of Brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 853p.

ANDRADE, C. M. **Obtenção de chope utilizando arroz preto (*Oryza sativa*) como adjunto de malte.** 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2007.

ANDRÉS-TORO, B.; GIRÓN-SIERRA, J. M.; LÓPEZ-OROZCO, J. A.; FERNÁNDEZ-CONDE, C.; PEINADO, J. M.; GARCÍA-OCHOA, F. Kinetic model for beer production under industrial operational conditions. **Mathematics and Computers in Simulation**, v. 48, p. 65-74, 1998.

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

BAMFORTH, C. W. Nutritional aspects of beer - a review. **Nutrition Research**, v. 22, p. 227–237, 2002.

BHARGAVA, A.; SHUKLA, S.; OHRI, D. *Chenopodium quinoa*—An Indian perspective **Industrial Crops and Products**, v. 23, p. 73–87, 2006.

BORGES, J. T.; BONOMO, R. C.; PAULA, C. D.; OLIVEIRA, L. C.; CESÁRIO, M. C. Caracteríticas Físico-Químicas, Nutricionais e Formas de Consumo da Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Temas Agrarios**, v. 15, n. 1, p. 9-23, 2010.

BOTELHO, B. G. **Perfil e teores de aminas bioativas e características físico-químicas em cervejas**. 2009. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BRADY, K.; HO, C.; ROSEN, R.; SANG, S.; KARWE, M. Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa. **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1209-1216, 2007.

BRÁNYIK, T.; SILVA, D. P.; BASZCZYNSKI, M.; RADEK LEHNERT, M.; ALMEIDA E SILVA, J. B. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. **Journal of Food Engeneering**, v.108, p. 493–506, 2012.

BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 4 de Junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Seção III.Art. 36. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 4 jun. 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em: 21 fev. 2011.

BRADEE, L. et al. Adjuntos. In: KLIMOVITZ, R. **El Cervecero en la practica.** Minessota: Master Brewers Association of the Americas, 2002. 840 p.

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

BRYCE, J. H.; GOODFELLOW, V.; AGU, R. C.; BROSNAN, J. M.; BRINGHURST, T. A.; JACK, F. R. Effect of Different Steeping Conditions on Endosperm Modification and Quality of Distilling Malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 116, n. 2, p. 125–133, 2010.

CARVALHO, G. B. M.; BENTO, C. V.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª parte – As leveduras. **Revista Analytica**, v. 5 n. 25, p. 36-42, 2005.

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

CASTRO, L. I. A. et al. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd): digestibilidade in vitro, desenvolvimento e análise sensorial de preparações destinadas a pacientes celíacos. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 4, p. 413-419, 2007.

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.

CORDEIRO L. M. C. et al. Arabinan and arabinan-rich pectic polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: Structure and gastroprotective activity. **Food Chemistry**, v. 130, p. 937–944, 2012.

CRUZ, J. M. M. Produção de cerveja. In: FONSECA, M. M.; TEIXEIRA, J. A. **Reactores Biológicos:** Fundamentos e Aplicações. Lisboa: Lidel, 2007. 483 p.

DRAGONE, G. **Estudo cinético do processo fermentativo de produção de cervejas em mostos concentrados**. 2002. 111 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2002.

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.

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

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

ENGLMANN, J.; MIEDANER, H. 2005. Métodos de producción de cerveza: matérias primas y aditivos de uso corriente. **Brewing and beverage industry español**, Mindelheim, n. 3, p. 10-16, 2005.

EVANS e BAMFORTH. Beer foam: achieving a suitable head. In: **Beer:** a quality perspective. BAMFORTH, C. W.; RUSSELL, I.; STEWART, G. G. San Diego: Elsevier, 2009. 304 p.

FISCHER, S. et al. Variation in antioxidant capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) subjected to drought stress. **Industrial Crops and Products**, v. 46, p. 341–349, 2013.

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

GELY, M. C.; SANTALLA, E. Moisture diffusivity in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds: effect of air temperature and initial moisture content of seeds. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 3, p. 1029-1033, 2007.

GEWEHR, M. F. et al. Análises químicas em flocos de quinoa: caracterização para a utilização em produtos alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 4, p. 280-287, 2012.

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

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

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, p. 318-328, 2010.

HAGER, A. S. et al. Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 239-247, 2012.

HIROSE, Y. et al. Antioxidative properties and flavonoid composition of *Chenopodium quinoa* seeds cultivated in Japan. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1300–1306, 2010.

HOUGH, J.S. **Biotechnology of malting and brewing.** Cambridge: Cambridge University Press, 1985. 159 p.

HUNT, J.; JOHNSON, L.; JULIANO, B. Bioavailability of zinc from cooked Philippine milled, undermilled and brown rice, as assessed in rats by using growth, bone zinc, and zinc-65 retention. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 18, p. 5229-5235, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4ª ed. São Paulo: Digital, 2008. 1000 p.

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

JANCUROVÁ, M.; MINAROVIČOVÁ, L.; DANDÁR, A. Quinoa: a review. **Czech Journal of Food Science**, v. 27, n. 2, p. 71–79, 2009.

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

KROTTENTHALER, M. Hops. In: EßLINGER, H.M. **Handbook of brewing**. Weinheim,Wiley-VCH, 2009. 778 p.

KUNZE, W. **Technology of brewing and malting**. Berlin: VLB, 1996. 726p.

LAMAGNA, A. et al. Performance of an e-nose in hops classification. **Sensors And Actuators**, v. 102, p. 278-283, 2004.

LEKKAS, C. et al. 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.

LETELIER, M. E. et al. Surfactant and antioxidant properties of an extract from *Chenopodium quinoa* Willd. seed coats. **Journal of Cereal Science**, v. 53, p. 239-243, 2011.

MAGALHAES MENDES, A.M., PALMA MADEIRA, L.M., DIAS CATARINO, M. **Process for enriching the aroma profile of a dealcoholized beverage**. PCT International Patent Application WO, 2008/099325 A2, 2008.

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

MEARIN, M. L.; IVARSSON, A.; DICKEY, W. Coeliac disease: is it time for mass screening? **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 19, n. 3, p. 441-52, 2005.

MEO, B. D. et al. Behaviour of malted cereals and pseudo-cereals for gluten-free beer production. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 117, n. 4, p. 541–546, 2011.

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

MOREIRA DA SILVA, P.; DE WIT, B. Spinning cone column distillation – innovative technology for beer dealcoholization. **Cerevisia**, v. 33, n. 2, p. 91–95, 2008.

MORI, A. **Method for lowering alcohol content of ready-made beer**. Japanese Patent JP 2004215551, 2004.

MOUSIA, Z. et al. The effect of milling parameters on starch hydrolysis of milled malt in the brewing process. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 2213–2219, 2004.

MUÑOZ-INSA, A. et al. Malting process optimization of spelt (*Triticum spelta* L.) for the brewing process. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 99-109, 2013.

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

NASCIMENTO, A. C. et al. Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the north of Argentina. **Proximates, minerals and trace elements Food Chemistry**, v. 148, p. 420–426, 2014.

NSIMBA, R.; KIKUZAKI, H.; KONISHI, Y. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus spp*. seeds. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 760-766, 2008.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. Disponível em <https://www.fao.org.br/lAIQ2013.asp>. Acesso em 06 de março de 2013.

PERU. Ministerio de Agricutura de Peru. **Historia de La quinua**. Disponível em <http://www.minag.gob.pe/portal/la-quinua/historia-de-la-quinua>. Acesso em 02 de maio de 2013.

PREGO, I.; MALDONADO, S. ; OTEGUI, M. Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. **Annals of Botany,** v. 82, n. 4, p. 481-488, 1998.

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

RODRIGO, L. Celiac disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 41, p. 6585-6593, 2006.

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

SEIDL, C**. O catecismo da cerveja**. São Paulo: SENAC Editora, 2003. 385 p.

SISTEMA DE CONTROLE DE PRODUÇÃO DE BEBIDAS. Disponível em http://www.receita.fazenda.gov.br/. Acesso em 03 de fevereiro de 2014.

SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A. O processo de fabricação de cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 491-498, 2008.

SLEIMAN, M. **Determinação do percentual de malte de cevada em cervejas tipo pilsen utilizando os isótopos estáveis de carbono (δ13C) e do nitrogênio (δ15N)**. 2006. 87f. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agronômicas, Unesp, Botucatu, 2006.

SOHRABVANDI, S. et al. Alcohol-free beer: methods of production, sensorial defects and healthful effects. **Food Reviews International**, v. 26, p. 335–352, 2010.

SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. Novas Cultivares: Quinoa BRS Piabiru, alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 6, p. 889-893, 2002.

SPEHAR, C. R.; SOUZA, P. I. M. Adaptação da quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) ao cultivo nos cerrados do planalto central: resultados preliminares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 635-639, 1993.

STEWART, G.G. A Brewer's delight. **Chemistry and Industry**, p.706-709, 2000.

STIKIC, R. et al. Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. **Journal of Cereal Science**, v. 55, p. 132-138, 2012.

SWISTOWICZ, W. Interpretation of laboratory analyses. In: BRODERICK, H. M. **The pratical brewer**. 2nd ed. Madison: Master Brewers Association of the Americas, 1977. 475 p.

TAYLOR, D.G. Water. In: PRIEST, F.G; STEWART, G.G. **Handbook of brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 853p.

TENGE, C. Yeast. In: EßLINGER, H.M. **Handbook of brewing**. Weinheim,Wiley-VCH, 2009. 778 p.

TSCHOPE, E.C. **Microcervejarias e cervejarias:** A história, a arte e a tecnologia. São Paulo: Editora Aden. 2001. 223 p.

VASCONCELOS, F. S. et al. Desenvolvimento e produtividade de quinoa semeada em diferentes datas no período safrinha. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 510-515, 2012.

VENEGAS, R. A. V. **Elaboración artesanal de cerveza orgánica de quinoa**. 2007. 72f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia de Alimentos) – Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Santiago, Chile, 2007.

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

VENTURINI FILHO, W. G.; CEREDA, M. P. Cerveja. In: AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. v. 4. 523 p.

WIJNGAARD, H. H.; ARENDT, E. K. Optimisation of a Mashing Program for 100% Malted Buckwheat. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 112, n. 1, p. 57–65, 2006.

WOLTER, A. et al. In vitro starch digestibility and predicted glycaemic indexes of buckwheat, oat, quinoa, sorghum, teff and commercial gluten-free bread. **Journal of Cereal Science**, v. 58, p. 431-436, 2013.

ZARNKOW, M. et al. Proso millet (*Panicum miliaceum* L.): an evaluation of the microstructural changes in the endosperm during the malting process by using scanning-electron and confocal laser microscopy **Journal of the Institute of Brewing**, v. 113, n. 4, p. 355–364, 2007.