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

ORERVES MARTÍNEZ CASTRO

Avaliação dos processos de produção de cervejas super concentradas elaboradas com xarope de milho e xarope de cana, utilizados como adjuntos de malte.

Lorena
2018

ORERVES MARTÍNEZ CASTRO

Avaliação dos processos de produção de cervejas super concentradas elaboradas com xarope de milho e xarope de cana, utilizados como adjuntos de malte.

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

Versão Corrigida

Lorena
2018

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

Martínez Castro, Orerves

Avaliação dos processos de produção de cervejas super concentradas elaboradas com xarope de milho e xarope de cana, utilizados como adjuntos de malte.
/ Orerves Martínez Castro; orientador João Batista de Almeida Silva - Versão Corrigida. - Lorena, 2018.
176 p.

Tese (Doutorado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2018

1. Cerveja. 2. Mosto super concentrado. 3. Xarope de milho. 4. Xarope de cana. 5. Levedura. I. Título. II. Silva, João Batista de Almeida, orient.

*Dedico esta tese a meu filho que é a
razão fundamental da minha vida e a
pessoa que mais amo. A minha mãe e a
minha avó, que desde o céu me guiam;
E para toda a minha família.*

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena (DEBIQ, EEL-USP), pela oportunidade da realização do curso de doutorado.

Ao Prof. Dr. João Batista de Almeida e Silva, pela confiança, aprendizado e amizade.

Ao Pesquisador Raúl Carrillo Ulloa, pelos anos de aprendizado, amizade e estímulo constante.

À agência CNPq, pelo apoio oferecido.

Aos professores: Dra. Maria das Graças de Almeida Felipe, Dra. Inês Conceição Roberto, Dra. Maria Bernadete de Medeiros, Dr. Ismael Maciel de Mancilha, Dr. Walter de Carvalho e a Dra. Adriane Maria Ferreira Milagres pelas dicas e ajuda oferecida.

Às amizades conquistadas durante este tempo na Planta Piloto de Bebidas: Waldir, Yanet, Amanda, Rodrigo, Júlio, Eduardo Haberbeck, Guilherme, Raquel Aizemberg, Raquel Almeida, Barbara, Larissa, Rodrigo Guedes, Diogo, Mateus, Giovanni, Eduardo, Ricardo.

Aos técnicos Paulinho e Zé Cobrinha, pela grande amizade. A todos os professores e funcionários do Debiq, pela ajuda oferecida em todos os momentos. Aos estudantes do Departamento de Biotecnologia, pela amizade.

Ao pessoal do Laboratório de Tecnologia das Fermentações e o Laboratório de Físico-Química de Alimentos, do UFRJ, Campus Rio de Janeiro: Os professores Thiago Rocha, Catarina Amorim, José Ricardo e para todos os estudantes que me ajudaram nas análises realizadas na sua instituição.

A Simone da faculdade de química e ao professor Felipe Rebello da faculdade farmácia (USP), pela ajuda oferecida.

Aos meus muitos amigos cubanos e brasileiros.

RESUMO

MARTÍNEZ CASTRO, O. **Avaliação dos processos de produção de cervejas super concentradas elaboradas com xarope de milho e xarope de cana, utilizados como adjuntos de malte.** 2018. 176 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2018.

A produção de cerveja utilizando mostos super concentrados tem sido objeto de vários estudos. O objetivo deste projeto foi avaliar a utilização de xarope de milho ou de cana, como adjuntos do malte, e analisar a qualidade sensorial das cervejas obtidas com mostos super concentrados. Foi aplicada a metodologia de planejamento experimental para alcançar este objetivo, onde o xarope de milho ou de cana foi utilizado como adjunto em diferentes proporções e as fermentações conduzidas em diferentes temperaturas. Inicialmente foram elaborados mostos puro malte (16°P) em duplicata, em escala de 3L. Na preparação dos mostos foram adicionadas as enzimas Papaína e Termamyl com o objetivo de obter uma maior concentração de nitrogênio amínico livre e auxiliar na filtração do mosto, respectivamente. No processo de fermentação foi adicionado um dos xaropes, com uma concentração de extrato de 65°P, e utilizado o processo de fermentação no regime descontínuo alimentado por pulsos. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* estirpe PPB-01, pertencente ao banco de cepas da EEL-USP foi utilizada por sua reconhecida tolerância às elevadas concentrações de etanol. Foram analisadas as composições físico-químicas e os parâmetros cinéticos da fermentação dos mostos e das cervejas obtidas na escala de bancada, sendo comparadas entre si. Os mostos obtidos em todas as formulações desenvolvidas no projeto tiveram concentrações de extrato original estimadas maiores que 18°P, concentração esta que por definição nomeados de mostos super concentrados. As eficiências de atenuação dos mostos e os fatores de conversão de substrato em produto obtidos foram acima de 90%, exceto para dois ensaios do planejamento. As cervejas produzidas, foram diluídas até uma concentração equivalente ao de uma cerveja obtida com extrato original de 10°P, e foram refermentadas em garrafas de vidro de 600mL, com objetivo de promover a carbonatação da bebida. Depois de gaseificadas, as cervejas foram submetidas a análise sensorial e a melhor amostra avaliada sensorialmente foi elaborada em escala piloto. O mosto super concentrado, elaborado em escala piloto, foi preparado com 37,5% de xarope de cana e fermentado na temperatura de 15,4°C. Também foi preparado, em escala piloto, um mosto denominado de padrão, que continha 37,5% de xarope de cana, fermentado a 15,4°C, porém com uma concentração de extrato original de 10°P. Foram avaliadas as composições físico-químicas e os parâmetros fermentativos dos mostos assim como das cervejas. As cervejas obtidas foram submetidas a análise sensorial e comparada com uma cerveja comercial do mercado nacional, sendo que a cerveja produzida no laboratório obteve melhores pontuações em diversos atributos, resultando como a preferida, tendo recebido as melhores notas atribuídas pelos provadores. Um levantamento do custo de produção foi estimado e a cerveja produzida com o mosto super concentrado, quando comparada com a cerveja produzida com o mosto padrão proporcionou economia de energia térmica e elétrica. Os resultados demonstraram que é possível aplicar esta tecnologia no processo cervejeiro, porque além de aumentar a produtividade dos equipamentos já instalados, pode gerar benefícios energéticos, econômicos e ambientais.

Palavras-chave: Cerveja. Mosto super concentrados. Xarope de milho. Xarope de cana. Levedura.

ABSTRACT

MARTÍNEZ CASTRO, O. **Evaluation of the production processes of super concentrated beers elaborated with corn syrup and sugarcane syrup, used as malt adjuncts.** 2018. 176 p. Thesis (Doctoral of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2018.

The production of beer using very high gravity brewing process has been strategies of several researches. The aim of project was the use of corn syrup and sugar-cane syrup as adjunct and to analyze the sensory quality of beer obtained from very high gravity brewing process. An experimental design was developed, where the corn syrup and sugar-cane syrup were used as adjunct in different proportions and were evaluated different temperatures in fermentation process. Initially, pure malt wort (16°P) were made in duplicate, on a 3L scale, adding Papaína and Termamyl enzymes, to obtain a higher concentration of free amino nitrogen and to assist in the wort filtration, repetitively. Fermentation process were conducted in fed batch regime with the addition of syrup (65 °P) in pulses. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain PPB-01, belonging to the strains bank of the EEL-USP, was used because it was already known about its tolerance to high concentrations of ethanol. The physico-chemical compositions and the kinetic parameters of the fermentation, of worts and the beers obtained on the bench scale, were analyzed and compared with each other. The worts obtained in all formulations had the original extract concentrations estimated above 18 °P, which by definition are classified as super concentrated worts. The attenuation efficiencies and the substrate conversion factors in product, of the worts obtained, were above 90%, except for two tests of the statistic design. The beers produced were diluted to original extract concentration of 10 °P, packaged in 600 mL glass bottles, and a new fermentation process was made in order to promote carbonation. After being carbonatation, the beers were submitted to sensorial analysis and the sample better evaluated sensorially, was chosen to be elaborated in the pilot scale. The wort obtained from very high gravity brewing process, on a pilot scale, was prepared with 37.5% cane syrup and fermented at a temperature of 15.4 °C. A standard wort containing 37.5% cane syrup, fermented at 15.4 °C, but with an original extract concentration of 10 °P, was also prepared on pilot scale. Physico-chemical compositions and kinetic parameters of worts and beers were evaluated. The obtained beers were submitted to sensory analysis and compared with a commercial sample of the national market, and the beer produced in the laboratory obtained better scores in several attributes, resulting as the preferred one, having received the best marks awarded by the tasters. Concentrated beer when compared to its standard beer afforded thermal and electrical energy savings. The results showed that it is possible to apply this technology in the brewing process because it can increase the productivity of the equipment installed and obtain energy, economic and environmental benefits.

Keywords: Beer. Very high gravity brewing. Corn syrup, Sugar-cane syrup. Yeast.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Crescimento do número de cervejarias no Brasil (CERVESIA, 2018).....	24
Figura 2 - Número de cervejarias nas diferentes regiões do Brasil (BEER ART, 2018).....	24
Figura 3 - Consumo per capita de cerveja no Brasil (Porta G1, 2018).....	25
Figura 4 - Célula de levedura (KUNZE, 1999).....	51
Figura 5 - Absorção dos carboidratos pelas estirpes <i>Saccharomyces</i> . Adaptado de Russell (2018).....	52
Figura 6 - Composição do extrato cervejeiro (KUNZE, 2004).....	59
Figura 7 - Perfil da mosturação utilizado no processo de cerveja super concentrada (CARRILLO; CARRILLO; MARTÍNEZ, 2011).....	77
Figura 8 - Perfil da mosturação utilizado para obter os mostos experimentais (MARTÍNEZ, 2014).....	77
Figura 9 - Requerimentos do consumo de energia elétrica em uma cervejaria (LARSON, 2018).....	81
Figura 10 - Perfil da mosturação utilizado para obter o mosto padrão, na escala piloto (MARTÍNEZ, 2014).....	94
Figura 11 - Formação de etanol nas fermentações para as cervejas com 70/30% de malte/adjunto, em escala de bancada, conduzidas nas temperaturas de 10 e 14 °C.....	107
Figura 12 - Formação de etanol nas fermentações para as cervejas com 55/45% de malte/adjunto, em escala de bancada, conduzidas nas temperaturas de 10 e 14 °C.....	108
Figura 13 - Formação de etanol nas fermentações para as cervejas com 62,5/37,5% de malte/adjunto, em escala de bancada.....	108
Figura 14 - Formação de etanol nas fermentações para as cervejas com 24,9 e 50,1 % de adjunto, em escala de bancada.....	109
Figura 15 - Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas com 70/30 % de malte/adjunto, em escala de bancada.....	111
Figura 16 - Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas com 55/45 % de malte/adjunto, em escala de bancada.....	111
Figura 17 - Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas com 62,5/37,5 % de malte/adjunto, em escala de bancada.....	112
Figura 18 - Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas com 24,9 e 50,1 % de adjunto, em escala de bancada.....	112
Figura 19 - Superfície de resposta para o tempo de fermentação, quando avaliado o efeito da combinação da temperatura de fermentação e a proporção de adjunto.....	124

Figura 20 - Superfície de resposta para a concentração de etanol, quando avaliado o efeito da combinação da temperatura de fermentação e da proporção de adjunto	124
Figura 21 - Superfície de resposta para a cor, quando avaliado o efeito da combinação da temperatura de fermentação e da proporção de adjunto.....	125
Figura 22 - Superfície de resposta para o fator de diluição, quando avaliado o efeito da combinação da temperatura de fermentação e da proporção de adjunto.....	126
Figura 23 - Formação de etanol nas fermentações para as cervejas elaboradas com a condição M;15,4°C;37,5%.....	130
Figura 24 - Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas elaboradas com a condição M;15,4°C;37,5%.....	131

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de algumas águas de cervejarias tradicionais (BRIGGS et al., 2004).....	31
Tabela 2 - Conteúdo mineral de águas de algumas cervejarias tradicionais e tipos de cervejas a elaborar com estas (SANCHEZ,2002).....	32
Tabela 3 - Efeitos da composição da água nas características do mosto cervejeiro (SANCHEZ, 2002).....	32
Tabela 4 - Comparação das características do grão de cevada e do malte (CEREDA, 1983; ALMEIDA e SILVA, 2005).....	35
Tabela 5 - Características de maltes especiais quanto à intensidade da cor e a temperatura máxima em sua obtenção. Adaptado de Kunze (1999).....	36
Tabela 6 - Análises típicos de alguns maltes tradicionais (FREEMAN, 2002)..	36
Tabela 7 - Características de diferentes adjuntos cervejeiros ricos em açúcares, encontrados na forma cristalina e xarope (BRIGGS et al., 2004).....	39
Tabela 8 - Características físico-químicas dos xaropes de milho comerciais (BRADEE et al., 2002).....	41
Tabela 9 - Aplicações dos adjuntos de acordo com os tipos de cervejas (BRADEE et al., 2002).....	42
Tabela 10 - Composição nutricional do açúcar refinado e o melado de cana, por 100g dos produtos (FAGUNDEZ, 2010; AIZEMBERG, 2015).....	43
Tabela 11 - Composição química do lúpulo em flor (ALMEIDA e SILVA, 2005).....	45
Tabela 12 - Compostos aromáticos relevantes encontrados em cervejas elaboradas com elevadas concentrações de lúpulo (SCHÖNBERGER; KOSTELECKY, 2011).....	47
Tabela 13 - Compostos amargos na cerveja, limites e concentração típica (SCHÖNBERGER; KOSTELECKY, 2011).....	48
Tabela 14 - Processos metabólicos da levedura (DÉAK, 2008).....	52
Tabela 15 - Diferenças entre as leveduras cervejeiras <i>Lager</i> e <i>Ale</i> (DÉAK, 2008).....	54
Tabela 16 - Parâmetros comumente analisados nos mostos cervejeiros (MEILGAARD, 2002).....	58
Tabela 17 - Viabilidade da espécie <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> quando cultivada em dois meios de cultura diferentes (DÉAK, 2008).....	67
Tabela 18 - Requerimentos do consumo de energia térmica em uma cervejaria (LARSON, 2018).....	81

Tabela 19 - Características físico-químicas da água do poço artesiano da EEL – USP (AIZEMBERG, 2012).....	86
Tabela 20 - Características do malte <i>Pilsen</i> utilizado no projeto. Adaptado de Malteria Soufflet Brasil Ltda (2005).....	87
Tabela 21 - Principais especificações do xarope de milho MOR – SWEET® 1557, utilizado no projeto. Adaptado de Ingredion Brasil (2015).....	88
Tabela 22 - Composição do xarope de cana, Caseiro & Natural, para uma porção de 20 g (ZONA CEREALISTA, 2018)	89
Tabela 23 - Fatores avaliados no planejamento experimental.....	90
Tabela 24 - Matriz de planejamento utilizada para obtenção da superfície de resposta.....	91
Tabela 25 - Condições para a fermentação dos mostos nas diferentes cervejas estudadas em escala de bancada.....	102
Tabela 26 - Comparação da concentração de FAN nos mostos, para as diferentes cervejas estudadas, com a proporção de referência (350) proposta por Basařová e Ćepička (1985).....	104
Tabela 27 - Parâmetros cinéticos encontrados na fermentação das diferentes cervejas estudadas em escala de bancada.....	114
Tabela 28 - Fatores de diluição para as cervejas obtidas em escala de bancada.....	117
Tabela 29 - Resultados das análises físico-químicas realizados nas cervejas super concentradas, elaboradas em escala de bancada.....	118
Tabela 30 - Parâmetros analisados nas superfícies de repostas.....	120
Tabela 31 - Análise de variância para o tempo de fermentação.....	121
Tabela 32 - Análise de variância para a concentração de etanol.....	121
Tabela 33 - Análise de variância para a cor.....	121
Tabela 34 - Análise de variância para o fator de diluição.....	122
Tabela 35 - Análise de variância para a atenuação real.....	122
Tabela 36 - Resultados da análise sensorial realizado nas cervejas elaboradas em escala de bancada.....	127
Tabela 37 - Condições para a fermentação do mosto da cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.....	128
Tabela 38 - Composição da concentração de FAN no mosto para a cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.....	129
Tabela 39 - Parâmetros cinéticos encontrados nas fermentações da cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.....	132

Tabela 40 - Fatores de diluição para a cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.....	133
Tabela 41 - Análise físico química da cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.....	134
Tabela 42 - Resultados da análise sensorial realizado na cerveja escolhida na escala de bancada, uma cerveja de origem comercial e as cervejas elaboradas em escala piloto.....	135
Tabela 43 - Resultados da análise da poupança de energia térmica e elétrica para as cervejas elaboradas em escala piloto.....	136
Tabela 44 - Estimativa da análise econômica do processo de produção de cerveja.....	136
Tabela 45 - Massa de gases de efeito estufa que podem deixar de se emitir ao meio ambiente com a aplicação da tecnologia de cerveja concentrada.....	138

SIGLAS

ASBC	American Society of Brewing Chemists.
EBC	European Brewery Convention.
Graus Brix (°Brix)	Concentração de sólidos dissolvidos, medidos a 15°C (% m/m).
FAN	Amino ácidos livres dissolvidos.
Graus Platô (°P)	Concentração de sólidos dissolvidos no mosto, medidos a 20°C (%m/m).
IBU	Unidades de amargor, expressas em mg de isso- α -ácidos por litro da bebida.
UA	Unidades Anson de atividade de enzimas proteolíticas.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 Mercado Cervejeiro Brasileiro	22
2.2 Cerveja Super Concentrada	26
2.2.1 Características e propriedades	26
2.3 Matérias primas	29
2.3.1 Água	29
2.3.2 Malte	33
2.3.3 Adjuntos	36
2.3.4 Xarope de milho	40
2.3.5 Xarope de cana	42
2.3.6 Lúpulo	44
2.4 Levedura	49
2.5 Fatores que influenciam na elaboração de cervejas concentradas	56
2.5.1 Concentração do mosto e viabilidade celular	56
2.5.2 Composição do mosto cervejeiro	58
2.5.3 Suplementação do mosto	61
2.5.4 Temperatura de fermentação	64
2.5.5 Suplementação de oxigênio ao mosto	65
2.5.6 Atividade de água	66
2.5.7 Concentração celular inicial	67
2.6 Utilização de enzimas exógenas	68
2.6.1 Papaína	69
2.6.2 Termamyl	71
2.7 Processos para a produção de cervejas concentradas	73
2.8 Desenho de experimentos	78

2.9 Avaliação sensorial	79
2.10 Avaliações energética, econômica e do meio ambiente	80
3 OBJETIVOS	85
3.1 Geral.....	85
3.2 Específicos	85
4 MATERIAL E MÉTODOS	86
4.1 Material	86
4.1.1 Água	86
4.1.2 Malte.....	87
4.1.3 Xarope de milho.....	87
4.1.4 Xarope de cana	88
4.1.5 Lúpulo	89
4.2 Levedura	89
4.3 Inóculo	89
4.4 Planejamento Experimental	90
4.5.1 Preparação do xarope de milho e do xarope de cana.....	92
4.5.2 Moagem do malte	93
4.5.3 Mosturação.....	93
4.5.4 Filtração do mosto	94
4.5.5 Fervura do mosto.....	95
4.5.6 Fermentação – Maturação	95
4.5.7 Acabamento da cerveja	96
4.6 Determinação dos parâmetros do mosto	97
4.7 Determinação dos parâmetros fermentativos	98
4.8 Cálculo dos parâmetros fermentativos.....	98
4.9 Avaliação da concentração do nitrogênio amínico livre	99
4.10 Avaliação sensorial da cervejas	99
4.11 Avaliação energética econômica e ambiental das cervejas estudadas em escala piloto	100

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
5.1 Resultados das cervejas elaboradas em escala de bancada	102
5.1.1 Preparação e composição do mosto	102
5.1.2 Avaliação da concentração do nitrogênio amínico livre (FAN) nos mostos.....	103
5.1.3 Avaliação do processo fermentativo	107
5.1.4 Avaliação dos parâmetros fermentativos	114
5.1.5 Avaliação das características das cervejas estudadas.....	116
5.1.6 Avaliação sensorial das cervejas estudadas em escala de bancada	127
5.2 Resultados das cervejas elaboradas em escala piloto	128
5.2.1 Características dos mostos na escala piloto	128
5.2.2 Avaliação da concentração do nitrogênio amínico livre (FAN) nos mostos.....	129
5.2.3 Avaliação dos parâmetros fermentativo	130
5.2.4 Cálculos dos parâmetros fermentativos	132
5.2.5 Avaliação das características físico-químicas das cervejas estudadas.....	133
5.2.6 Avaliação sensorial das cervejas estudadas na escala de bancada.....	134
5.2.7 Avaliação da poupança energética, econômica e benefícios ao meio ambiente do processo desenvolvido	135
6 CONCLUSÕES	139
7 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	140
REFERENCIAS	141
APÊNDICES	156

1 INTRODUÇÃO

Acredita-se que as bebidas alcoólicas não foram desenvolvidas em um único lugar do mundo e sim em diferentes lugares ao mesmo tempo (HORNSEY, 2003). Conforme Anderson (2018), a elaboração da cerveja foi uma atividade doméstica ou uma produção em pequena escala que supria, com suas características, um importante elemento na dieta da primeira população agrícola. Conforme o autor na região da Mesopotâmia foram descobertos utensílios cervejeiros identificados como de 6.000 ou 7.000 anos atrás.

Briggs et al., (2004) confirmam que a cerveja é um produto projetado para ser bebido, e que contém mais de 450 compostos químicos caracterizados, e além disso, contém macromoléculas tais como proteínas, ácidos nucléicos, polissacarídeos e lipídeos.

A cerveja é definida pela legislação brasileira, no Decreto n. 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, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Na Seção III, o Art. 36, descreve que: 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, malteados ou não malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009).

Briggs et al., (2004) destacam as dificuldades para classificar os diferentes tipos de cervejas, que podem ser denominadas de baixa fermentação (*Lagers*), alta fermentação (*Ales*) ou "granel", quando envasadas em barris. Outras fontes, nas diretrizes de estilos de cerveja, tentam enfatizar na avaliação final do produto e tentam não julgar ou regular a formulação ou a forma como foi fabricada, exceto em circunstâncias especiais que definem claramente um estilo (BREWERS, 2017).

Smith (2013) comenta que não foi até finais do século XX que alguns cientistas publicaram e focaram na política mundial à preservação do meio ambiente e argumenta sobre a necessidade da utilização sustentável dos recursos naturais. Trommer (2014) considera a sustentabilidade ambiental como a integração equilibrada dos critérios ambientais, sociais e econômicos, no qual, além

de diminuir os impactos causados pelas empresas ao meio ambiente, seja também um diferencial competitivo a longo prazo. Um dos aspectos da sustentabilidade é o desenvolvimento de metodologias que aprimorem o sistema produtivo, tornando-o menos nocivo ao meio ambiente.

A energia é uma das principais exigências da sociedade moderna porque é necessária para produzir bens de consumo. Grande parte da energia gerada no mundo é proveniente de combustíveis fósseis sendo responsável pela liberação de gases que produzem efeito estufa (HINRICHS; KLEINBACH; DOS REIS, 2011).

Barbosa (2010) acredita que os baixos níveis de eficiência energética dos países em desenvolvimento representam uma barreira aos esforços de diminuir às alterações climáticas, e que os projetos procurando soluções podem transformar o que hoje é uma ameaça, em uma oportunidade de obter processos que ajudem no desenvolvimento humano. Hinrichs, Kleinbach e Dos Reis (2011) avaliam que o uso excessivo dos recursos energéticos e a aplicação de produtos químicos são dois dos principais fatores que afetam o meio ambiente.

Segundo Keilbach (2009) antes da década de 1990, a consciência ambiental foi pouco desenvolvida; no entanto, a discussão pública sobre mudanças climáticas e os escândalos ambientais levou a um repensar da sociedade como um todo. A cerveja é um produto de alta qualidade e pureza, que utiliza para sua elaboração recursos naturais, e sua produção deve ocorrer de acordo com demandas favoráveis ao meio ambiente.

Pelo exposto anteriormente é perceptível que a tendência das pesquisas a nível mundial é procurar por tecnologias que permitam incrementar a produtividade e a economia das matérias-primas na produção de cervejas, que além de promover economia de energia, diminuam os efeitos negativos ao meio ambiente.

De acordo com Ingledew, Casey e Magnus (1984) a maioria das cervejas tradicionais são elaboradas com mostos com concentrações originais entre 11 e 12 °P (concentração de sólidos dissolvidos). A fonte confirma que há alguns anos vem se elaborando cervejas a partir de mostos com concentrações entre 16 e 18 °P (**high gravity brewing**), obtendo produtos com boa qualidade, e com vantagens econômicas no processo.

Jones, Margaritis e Stewart (2007) e Carrillo, Carrillo e Martínez (2011), definem as cervejas obtidas a partir de mostos super concentrados (**very high gravity brewing**), como as bebidas obtidas com concentração de extrato original

acima de 18 °P, e citam as vantagens que esta tecnologia proporcionaria à indústria cervejeira. A implementação industrial desta tecnologia aportaria grandes vantagens para as cervejarias e para o meio ambiente.

Segundo Stewart (2006) os adjuntos cervejeiros são qualquer material, diferente do malte, que forneça carboidratos ao mosto. A fonte cita o milho, o arroz, o sorgo, o trigo e a cevada não maltada, como adjuntos muito utilizados industrialmente. Outros autores comentam sobre as pesquisas que estão sendo desenvolvidas, na Escola de Engenharia de Lorena, da Universidade de São Paulo, com adjuntos denominados não convencionais (ALMEIDA; ALMEIDA e SILVA, 2017). A fonte comenta a facilidade de conseguir estes adjuntos, visto que são produtos oriundos da região, e cita diferentes exemplos destes, tais como o pinhão (*Araucaria angustifolia*), o arroz preto, a pupunha, o permeado de leite e o melado de cana.

Trabalhos desenvolvidos por Martínez (2014) confirmaram a possibilidade de obter cervejas super concentradas a partir de mostos com concentrações originais entre os 20,7 e 24,4 °P. Estas cervejas foram desenvolvidas utilizando o xarope de milho com 65 °P como adjunto. Esta matéria-prima é recebida numa concentração entre 80 e 82 °Brix.

A utilização deste tipo de processo demonstrou que dentre outras vantagens, pode se aumentar a capacidade da instalação, além de gerar benefícios energéticos, econômicos e ao meio ambiente.

Com conhecimentos adquiridos utilizando uma base de pesquisas desenvolvidas com esta tecnologia, com a posse de uma levedura tolerante à alta concentração alcoólica (PPB-01), com o posse de adjuntos, como o xarope de milho e o xarope de cana, que possuem elevadas concentrações de extrato e a necessidade mundial de economia de energia e melhoria do meio ambiente, este trabalho visou avaliar o potencial da utilização do xarope de milho e do xarope de cana de açúcar, como adjuntos, na elaboração de cervejas super concentradas.

Ressalta-se que este projeto apresenta caráter tecnológico inovador, uma vez que no setor cervejeiro, já existem pesquisas com mostos super concentrados, porém industrialmente ainda não há menção sobre a sua aplicação. Os resultados do processo desenvolvido para elaborar cerveja super concentrada, utilizando o potencial que tem o xarope de milho e o xarope de cana como adjuntos, podem trazer importantes avanços para desenvolvimento desta tecnologia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Mercado Cervejeiro Brasileiro

Conforme Sánchez (2010) com a "descoberta" da América, os colonos europeus foram responsáveis por trazer, durante os séculos XVII, XVIII e XIX, as suas técnicas e receitas para a elaboração de cervejas. Algumas dessas cervejas foram regionalizadas; no entanto, apenas no final do século XIX, foi que a indústria se desenvolveu em nosso continente impulsionada pelos avanços tecnológicos produzidos pela Revolução Industrial na Grã-Bretanha.

Coutinho (2017) acredita que a cerveja chegou ao Brasil em 1808 trazida pela família real, devido ao fato que o rei era um fiel apreciador desta bebida. Segundo a referência, os portugueses demoraram para trazer a cerveja temendo perder parte das vendas de seus vinhos, pois existia a possibilidade da preferência dos consumidores pela nova bebida.

No Brasil a primeira cervejaria industrial foi inaugurada na década de 1870. A fábrica Imperial de Cerveja Nacional começou a funcionar no ano de 1876 e em 1898 mudou o seu nome para Cervejaria Bohemia (ALMEIDA; ALMEIDA e SILVA, 2017). Ainda segundo a fonte, no ano de 1888 foram fundadas as duas maiores cervejarias do mercado nacional na época, a Cervejaria Brahma no Rio de Janeiro e a Cervejaria Antarctica Paulista.

Atualmente existe um grande desenvolvimento da indústria cervejeira a nível mundial e no Brasil, que é o terceiro maior produtor da bebida. Segundo Hendges (2014), o Brasil produziu em 2013 mais de 130 milhões de hectolitros de cerveja. Com relação ao mercado de cervejas especiais, especificamente, o segmento de microcervejarias, em 2014 estimava-se que já existiam cerca de 200 microcervejarias, localizadas principalmente nas regiões sul e sudeste do Brasil, e que representavam menos de 1 % do setor cervejeiro nacional (HENDGES, 2014). Ainda segundo o autor, esse segmento apresenta tendência de crescimento e deve atingir 2 % da fatia do mercado de cervejas em dez anos, motivado pela busca por

parte dos consumidores pela satisfação sensorial que proporciona este produto e também favorecida pela melhoria na renda da população brasileira.

Conforme Kunze (1999), 95 % da cerveja do mundo é produzida em grandes cervejarias. Os outros 5 % são elaboradas por dois diferentes grupos de cervejeiros:

- a) os "cervejeiros caseiros" ou "cervejeiros aficionados" que elaboram e bebem suas próprias cervejas, e na outra parte;
- b) as "cervejarias restaurantes" e as "microcervejarias" que produzem e vendem ao redor de 1.000 a 10.000 hL de cerveja por ano.

O autor comenta que em alguns países existem pequenas cervejarias comerciais com capacidade de até 30.000 hL, sendo também chamadas de microcervejarias. Até o ano 1996, se considerava que na Alemanha existiam em torno de 800 microcervejarias e cervejarias restaurantes, enquanto, em aquela época, o número de estabelecimentos semelhantes tinha ultrapassado os 500 nos Estados Unidos e no Canadá.

Em 2017, o número de cervejarias em operação nos Estados Unidos era acima de 6.000 estabelecimentos (BAKER, 2017). A fonte destaca que 98 % das cervejarias que operam nos EUA, são pequenas e independentes.

O mercado cervejeiro brasileiro tem apresentado uma evolução ascendente nos últimos 30 anos, e recentemente alcançou o patamar de 140 milhões de hectolitros de cervejas produzidas, mantendo o Brasil como o terceiro produtor mundial, ficando atrás da China e dos EUA (CERVESIA, 2017). A fonte confirma que existiam em 2017, 610 cervejarias registradas e que nesse ano foram concedidos 91 novos registros de estabelecimentos produtores de cerveja. A Figura 1 apresenta o aumento expressivo deste quesito desde o ano 2000.

Ainda segundo a referência, a maioria das cervejarias estão localizadas nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, somando o 83 % deste tipo de estabelecimentos.

Em janeiro de 2018 fontes divulgaram que o número de microcervejarias no Brasil em 2017 chegou a 679 estabelecimentos (BEER ART, 2018). Estas cervejarias são responsáveis pela venda de um total de 8.903 produtos diferentes no mercado brasileiro.

Figura 1 – Crescimento do número de cervejarias no Brasil.

Fonte: (CERVESIA, 2017).

A Figura 2 apresenta a distribuição das cervejarias nas diferentes regiões do país. A referência também confirma que Rio Grande do Sul (142) ultrapassou São Paulo (124) no número de cervejarias, passando a ser o estado que tem o maior número de estabelecimentos deste tipo no país.

Figura 2 – Número de cervejarias nas diferentes regiões do Brasil.

Fonte: (BEER ART, 2018).

Além do número de cervejarias e do volume de cerveja produzido, outra questão importante é o consumo per capita de cerveja (Litros/ano por habitante). Este consumo é visto como um dos parâmetros que refletem na estabilidade da economia e do setor cervejeiro dos países. Conforme Filomeno (2015) em 2014 o consumo per capita de cerveja no Brasil foi de 62 L, sendo classificado como o número 17 no mundo, enquanto a República Tcheca (143 L), a Áustria (108 L) e a Alemanha (107 L), eram os três primeiros colocados. Na América Latina, o Brasil fica atrás da Venezuela (76 L), que era classificado como o número 11 no mundo, sendo o país sul-americano melhor colocado no ranking. Já Alvarenga (2017) relata que o consumo per capita de cerveja no Brasil, recuou pelo terceiro ano consecutivo. A Figura 3 apresenta o comportamento do consumo per capita nos últimos 8 anos, no Brasil.

Figura 3 – Consumo per capita de cerveja no Brasil.

Fonte: Alvarenga (2017).

A indústria cervejeira exerce um papel importante na economia dos países. A cadeia produtiva de cerveja no Brasil pagou R\$ 16,4 bilhões em salários para seus empregados em 2012 (AMBEV, 2012). Os dados apontam que a cadeia da cerveja respondeu por 1,6 % do PIB brasileiro e que mais de 1,7 milhão de pessoas trabalhavam nesse setor, sendo a AmBev a empresa líder do mercado. Dados mais recentes da mesma empresa, informam que em 2016 este mercado foi responsável

por 1,6 % do PIB do Brasil e que o número de pessoas, que trabalham neste setor, era de 2,2 milhões entre empregados diretos e indiretos (AMBEV, 2016).

2.2 Cerveja Super Concentrada

2.2.1 Características e propriedades

As cervejas tradicionais são elaboradas com mostos de 11 a 12 % de sólidos dissolvidos, os quais são fermentados para produzir cervejas de 4 a 5 % (v/v) de etanol. A obtenção de cerveja a partir de mostos de alta densidade (high gravity brewing) com um limite de 16 a 18 % de sólidos dissolvidos, tornou-se popular no mundo todo devido às muitas vantagens que oferece para a indústria cervejeira (INGLEDEW; CASEY; MAGNUS, 1984).

Segundo Munroe (2006) a tecnologia para elaborar cervejas com mostos concentrados está bem estabelecida. Contrário de utilizar mosto ao redor dos 12 °P, as fermentações chegam a 18 °P de concentração de extrato original. Em princípio, as operações da sala de cocção não são muito afetadas, embora os equipamentos devam lidar com quantidades maiores de grãos. Posteriormente a cerveja fermentada é diluída, com água gaseificada, para a concentração de extrato original ou para uma concentração de álcool desejada. A água deve ser adicionada tão tarde quanto possível no processo.

A elaboração de cerveja concentrada é uma tecnologia que utiliza mosto de concentração superior à geralmente utilizada, e requer diluição com água (usualmente desoxigenada), em alguma operação do processo (STEWART e RUSSELL, 2009). Segundos os autores não é necessária a expansão dos equipamentos existentes na elaboração, fermentação e maturação, da cervejaria, para conseguir o incremento da produção, o que é explicável pela redução da quantidade de água empregada na sala de cozimento.

Desde início do milênio vem sendo desenvolvidas numerosas pesquisas em tecnologias de fermentação alcoólica (PULIGUNDIA; SMOGROVACOVA; OBULAM, 2011), A fonte confirma que a indústria do álcool tenta incorporar tecnologias que potencializem a redução de energia e o incremento da

produtividade e a eficiência dos métodos de produção existentes. A tecnologia de fermentação de mostos com alta densidade é uma tecnologia emergente, versátil, que oferece maior economia nos requerimentos de água e de energia em todo o processo. Khongsay et al. (2012) comentam que para aumentar a eficiência das plantas produtoras de bioetanol, uma opção com muito potencial é fermentar mostos com elevadas concentrações de açúcares, para produzir altos níveis de etanol no produto.

Conforme Bayrock e Ingledew (2001) o caminho mais econômico para a produção de etanol é a fermentação com *Saccharomyces cerevisiae* e a elaboração e fermentação de mostos com elevados pesos moleculares, que vem sendo muito utilizada nos Estados Unidos. Os autores confirmam que a maioria das grandes cervejarias do mundo elabora ou já tem elaborado mostos concentrados para obter seus produtos e que esta tecnologia gera importantes vantagens no processo cervejeiro.

Segundo Khongsay et al. (2012) as fermentações de etanol a partir de mostos super concentrados usam meios contendo mais de 270 g/L de açúcares totais. Esta tecnologia está sendo gradualmente aplicada à indústria onde se procura obter vinhos com concentrações de etanol iguais ou superiores a 15 – 16 %, com o objetivo de diminuir os custos de produção.

Segundo Carrillo, Carrillo e Martínez (2011), uma nova tendência para desenvolvimento da indústria cervejeira é a obtenção de cervejas a partir de mostos super concentrados. Define-se como cervejas super concentradas, aquelas obtidas pela preparação e fermentação de mostos com concentrações superiores a 18 °P. Martínez (2014) confirma que este processo visa aumentar os benefícios já demonstrados na elaboração de cervejas obtidas com mostos concentrados.

Tradicionalmente, a cerveja contém 5 % (v/v) de etanol e é obtida pela fermentação de mostos com extrato original de 12 °P (Yu et al., 2012). Desde a década de 1960, concentrações mais elevadas de extrato (ao redor de 16 °P) são utilizadas para produzir cervejas, com maior teor alcoólico (ao redor de 7,5 % v/v), que depois são diluídas em alguma etapa do processo antes de serem envasadas. Recentemente, tem se dado mais atenção às cervejas obtidas a partir de mostos super concentrados (18-25 °P) devido às suas maiores vantagens econômicas. A fabricação destes mostos pode aumentar a capacidade e a eficiência da produção,

reduzir custos de energia, trabalho e capital, bem como melhorar a estabilidade coloidal da cerveja e obter um produto de sabor mais suave.

2.1.2 Benefícios esperados

Conforme Stewart (2018) e, os processos de cervejas concentradas tem um número de vantagens as que podem ser resumidas em:

- a) o mosto concentrado produzido pode ser diluído para produzir uma série de produtos com diferentes concentrações de extrato, unidades de amargor, e concentração de cor;
- b) pode ser utilizada uma maior proporção de adjuntos e, conseqüentemente, uma redução nos custos das matérias-primas devido ao uso de uma menor quantidade de malte;
- c) o processo melhora a estabilidade física da cerveja;
- d) possivelmente o aspecto mais importante seja o aumento significativo na produtividade geral que pode ser alcançado sem gastos significativos de capital nas instalações existentes;
- e) a tecnologia pode reduzir a quantidade de água e energia utilizada, por unidade de cerveja produzida para a venda, o que é muito importante para um desenvolvimento sustentável da indústria;
- f) podem ser reduzidos os custos de mão-de-obra, limpeza e efluentes na cervejaria;
- g) as condições de processo para fermentar os mostos concentrados aumentam a produção de etanol por unidade de extrato fermentável, como resultado do reduzido crescimento das leveduras devido ao aumento da pressão osmótica e, conseqüentemente, a conversão de mais açúcares de mosto em etanol.

Entretanto o processo também possui desvantagens que podem ser resumidas em:

- a) devido à maior concentração de extrato, há uma diminuição na eficiência das matérias-primas. Esse problema pode ser superado pelo uso de modernos filtros de mosturado ou uso de xaropes na tina de fervura;
- b) o mosto mais concentrado na fervura resulta na redução da utilização do lúpulo. Este problema pode ser resolvido com o uso de extratos de lúpulo;

- c) uma das principais desvantagens do processo da fermentação de mostos concentrados é a redução da estabilidade da espuma na cerveja final diluída;
- d) durante a fermentação de mosto concentrado aumenta a formação de ésteres na cerveja (especialmente acetato de etila e acetato de isoamila);
- e) o desempenho da levedura é influenciado como resultado da fermentação de mostos concentrados, com efeitos específicos na fermentação, floculação e o número de ciclos de reciclagem desta no processo produtivo.

2.3 Matérias primas

2.3.1 Água

A qualidade da água é diretamente influenciada pelos fenômenos naturais e pelas atividades humanas (FONTANA; PETERSON; CECHINEL, 2018). Segundo os autores as características físicas, químicas e biológicas da água devem ser avaliadas, uma vez que a variedade de elementos presentes podem alterar o seu grau de pureza.

Conforme Bamforth (2017), embora seja utilizada mais água no cultivo das matérias-primas (cevada, adjuntos e lúpulo) e no processo de malteação da cevada, do que aquela que é usada na fabricação de cerveja, a produção de cerveja é visto como um processo com elevado consumo de água. Para o uso viável da água, nas cervejarias, o índice de consumo deve ser o mais perto dos 3L por cada litro de cerveja envasada. Na cervejaria a água é processada para torná-la livre de impurezas e para garantir que possua a composição adequada para as cervejas que estão sendo produzidas, processo que favorece a elaboração de uma mesma marca em diferentes partes do mundo. O autor também cita que a água também será processada para remover a dureza antes da utilização em sistemas de geração de vapor e será desaerada quando usada para diluir cervejas obtidas a partir de mostos concentrados.

Krottenthaler e Glas (2009) confirmam que em termos de quantidade, a água é a matéria-prima mais importante da cerveja, e que a composição química e biológica desta, tem uma relevância significativa na produção da cerveja. Segundo

a fonte não há qualquer etapa no processo de fabricação de cerveja, que não seja influenciada pelos constituintes da água.

Conforme Taylor (2018) a cerveja pelo geral é composta de 90 % ou mais de água, o que faz evidente a importância da qualidade, quanto a quantidade, da água utilizada, para a qualidade do produto. A importância de um suprimento sustentado de água para a fabricação de cerveja reflete-se na razão de consumo requerida, que pode variar de 3 a 20 unidades de volume de água por unidade de volume de cerveja, com uma média de 6 por 1.

Ainda segundo o autor a água de uso nas cervejarias podem ser divididas nas seguintes categorias:

- a) água de fabricação de cerveja: é a água que contribui diretamente como um ingrediente para a cerveja. Esta água requer tratamento para ajustar sua composição e assim poder elaborar o tipo de cerveja desejado;
- b) água de processo: Compreende a água usada para a limpeza de equipamentos e tubulações (ou seja, todas as superfícies de contato do processo de cerveja). Deve ser de padrão potável e mole;
- c) água de serviço: pode ser considerada água de processo que requer tratamento adicional específico. Inclui água para alimentação da caldeira (ou seja, geração de vapor), que não deve produzir incrustações e, portanto, deve ser água bem mole ou, idealmente, totalmente desmineralizada. A água usada nos pasteurizadores e na refrigeração também se enquadra nessa categoria;
- d) água de uso geral: cobre a água para lavagem geral, higiene do local e uso no escritório, e geralmente não requer mais tratamento no local.

Krottenthaler e Glas (2009) definem a dureza da água como um dos principais fatores a serem levados em conta na hora de elaborar a cerveja. O cálcio e o magnésio são os principais compostos que influenciam neste quesito, o qual pode ser ajustado ao nível desejado com diferentes tratamentos, segundo o tipo de cerveja a ser elaborada. Os autores falam ainda de outros parâmetros de importância tais como o pH, e presença de outros compostos como cloro, sulfato e ferro, que podem prejudicar sensorialmente o produto.

Segundo Briggs et al., (2004) as cervejarias utilizam grandes quantidades de água na elaboração de seus produtos. Historicamente, diferentes regiões ficaram famosas pelos tipos particulares de suas cervejas e grande parte das diferenças entre os tipos de cervejas é influenciada pela composição das águas. A cerveja tipo

Pilsen, que tem cor clara e sabor delicado, é elaborada com águas bem suaves. A *Burton-on-Trent* que é rica em sulfato de cálcio, a *Munich*, *Dourmond* e a *Vienna*, são elaboradas com águas extremamente duras. Os autores apresentam na Tabela 1 as características de dureza das águas utilizadas para elaborar algumas destas cervejas.

Tabela 1 – Parâmetros de algumas águas de cervejarias tradicionais, (expressadas em mg/L).

Parâmetros	Pilsen	Burton-on-Trent		Munich		Dortmund	London	Wien ou Vienna	Melbourne
Sólidos totais	51	–	1226	536	273	984	320	984	25
Cálcio (Ca^{2+})	7,1	352	268	109	80	237	90	163	1,3
Magnésio (Mg^{2+})	3,4	24	62	21	19	26	4	68	0,8
Bicarbonatos (HCO_3^-)	14	320	–	171	–	174	–	243	–
Carbonatos (CO_3^{2-})	–	–	141	–	164	–	123	–	3,6
Sulfatos (SO_4^{2-})	4,8	820	638	7,9	5	318	58	216	0,9
Nitratos (NO_3^-)	tr.	18	61	53	3	46	3	tr.	0,2
Cloretos (Cl^-)	5,0	16	36	36	1	53	18	39	6,5
Sódio (Na^+)	–	–	30	–	1	–	24	–	4,5

Fonte: Briggs et al., (2004).

Nota: tr - traços;

– não detectado.

A composição da água geralmente é influenciada pela sua origem (SANCHEZ, 2002). Segundo o autor, a maior parte das águas extraídas de poços contém um alto conteúdo mineral e baixo conteúdo orgânico. Fontes de água superficiais, como lagos e rios, contrariamente, fornecem águas com baixo conteúdo mineral e frequentemente tem níveis orgânicos mais elevados. O conteúdo de minerais da água afeta diferentes etapas do processo, como a mosturação, a filtração do mosto, a fervura do mosto e o processo de fermentação, influenciando tanto na cor como no sabor do produto. A Tabela 2 apresenta as características de águas utilizadas para diferentes tipos de cervejas.

Tabela 2 – Conteúdo mineral de águas de algumas cervejarias tradicionais e tipos de cervejas a elaborar com estas (expressadas em mg/L).

	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Na ⁺	SO ₄ ⁻²	HCO ₃ ⁻²	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	Tipo de Cerveja
Burton-on-Trent	352	24	54	820	320	16	18	<i>Ales</i> claras
Dortmund	260	23	69	283	549	106	–	<i>Ales</i> claras secas e <i>Lagers</i> suaves
Munich	80	19	10	5	333	1	3	<i>Lagers</i> escuros e <i>Stouts</i>
Dublin	119	4	12	54	319	19	–	<i>Lagers</i> escuros doces e <i>Stouts</i>
Pilsen	7	8	32	6	18	5	–	<i>Lagers</i> claras

Fonte: Sanchez (2002).

Ainda, conforme Sanchez (2002), a Tabela 3 demonstra como os minerais podem afetar a mosturação, a filtração e as características do mosto.

Tabela 3 – Efeitos da composição da água nas características do mosto cervejeiro.

Composição (mg/L)	Água A	Água B	Água C	Água D
Ca ⁺²	79	166	83	207
Mg ⁺²	18	39	16	3
Na ⁺	2	13	26	24
SO ₄ ⁻²	7	217	223	282
HCO ₃ ⁻²	319	396	51	136
Cl ⁻	3	38	40	127
Efeito				
Tempo de sacarificação (min.)	75	60	15	10
Tempo de filtração relativo	28	21	8	8
Aroma do mosto	Fortemente aromático	Aromático	Neutro	Neutro
Cor do mosto	Âmbar escuro/vermelho	Menos vermelho	Amarelo claro	Verde claro
% de extrato	76,5	77,2	78,5	78,3
% de atenuação	71,4	71,8	75,8	77,4

Fonte: Sanchez (2002).

Por sua parte, Krottenthaler e Glas (2009) acreditam que para ter as águas com as características desejadas para fazer cerveja, em muitos casos é necessário submete-las a um determinado tratamento. Por exemplo se as cervejarias e indústrias de bebidas querem obter suas águas de processo a partir da rede pública e/ou a partir de seus próprios poços, o tratamento da água tem de ser abordado em dois aspectos:

- a) tratamento de água crua para torna-la potável segundo critérios legais;

- b) tratamento de água potável devido aos requisitos tecnológicos de cerveja.

Sanchez (2012) comenta a importancia da água para diluição de cervejas obtidas de mostos concentrados. Kunze (2004) aponta sobre a necessidade de se obter uma água de muito boa qualidade, que segundo a fonte, deve cumprir as seguintes características:

- a) composição química similar à da água utilizada para a elaboração da cerveja;
- b) estar resfriada a 1 °C;
- c) ser esterilizada, com filtro estéril;
- d) estar completamente desaerada (ao vácuo ou com purga com CO₂);
- e) possuir o mesmo conteúdo de CO₂ que a cerveja;
- f) misturar a água na transferência da cerveja para ter uma boa homogeneização.

2.3.2 Malte

O malte é obtido de cereais germinados, como cevada, trigo, aveia, centeio, sorgo, painço, arroz, milho e pseudo-cereais, como trigo-mourisco e quinoa (PALMER, 2018). O autor destaca a cevada como o principal cereal utilizado para a produção de cerveja e uísque de malte, e as divide em duas espécies principais: de duas fileiras (*Hordeum distichon*) e de seis fileiras (*Hordeum vulgare*).

Conforme Freeman (2002) da produção mundial de cereais a cevada representa o 10 % e fundamentalmente é utilizada na elaboração de cerveja e na alimentação animal. A facilidade da cevada radica na adaptação geográfica para seu cultivo, pode crescer em climas e solos considerados muito duros para o milho, o trigo e o arroz, e na relativa facilidade com a que pode ser manipulada nas malterias e nas cervejarias.

A cevada maltada é um ingrediente chave na maioria das cervejas porque fornece compostos que influenciam na cor e no sabor da bebida, assim como é uma fonte ótima de nutrição para as leveduras (HERB et al., 2017). Segundo os autores à mesma variedade de cevada é utilizada para produzir uma gama de maltes diferentes. Apesar da falta geral de visibilidade da cevada, para o consumidor de cerveja, as potenciais variedades desta passam por uma avaliação extensiva e rigorosa dos atributos de qualidade agrônômica e de malteação antes da sua liberação.

Conforme Martínez et al. (2011) o malte de cevada é a principal matéria-prima utilizada na elaboração de cerveja porque proporciona inumeráveis compostos, além de influenciar no sabor e no aroma do produto terminado. Freeman (2002) confirma que além de ser usado na elaboração de cerveja, o malte também é utilizado em destilarias na produção de uísques escoceses, que é elaborado usando 100 % de malte, e na indústria de alimentos, utilizado em pequena proporção, para conferir sabor em diferentes produtos.

Segundo Almeida e Silva (2005) o malte utilizado em cervejarias é obtido de cevada, cereal de cultivo muito antigo, utilizado em culturas neolíticas no Egito, entre 6.000 e 5.000 a. C.

Kreisz (2009) confere que o malte é obtido da germinação artificial do grão de cevada (*Hordeum vulgare*), que tem uma estrutura complexa. A cevada para a fabricação de cerveja contém fundamentalmente amido, proteína, polissacarídeos e pequenas quantidades de gordura e minerais.

Palmer (2009) confirma que a cevada é um cereal que cresce em diferentes partes do mundo e que pode ser divididas em duas espécies fundamentais: a de duas fileiras e a de seis fileiras. Conforme o autor o malte de cevada é usado em diferentes quantidades para fazer uísque em diferentes partes do mundo. O malte também é usado na elaboração de vinagre e alguns outros alimentos tais como: pão, biscoitos, confeitaria e bebidas de malte. Além disso, segundo a fonte, o malte também é utilizado como meio de cultura microbiológico para o crescimento de microrganismos.

Programas de pesquisas, acompanhados de perto pela indústria cervejeira, através de colaborações como a American Malting Barley Association, continuam a desenvolver novos tipos de cevadas para aumentar a qualidade dos maltes (BAMFORTH, 2017). A fonte destaca que os principais objetivos são o aumento de rendimento, melhora das características agrônômicas, incluindo o aumento da resistência da casca; e reduzir susceptibilidade a pragas e doenças. Nos últimos anos, foram desenvolvidas cevadas geneticamente modificadas, incluindo um tipo com baixo conteúdo de proantocianidina, deficiente em polifenóis que contribuem para a formação de turbidez na cerveja, bem como cevadas incapazes de sintetizar a enzima lipoxigenase, o que contribui para a não deterioração da cerveja. O autor, ainda comenta, que existe uma resistência intrínseca na indústria de fabricação de cerveja sobre o uso de materiais geneticamente modificados e, embora certos

traços desejáveis possam ser introduzidos na cevada que beneficiem a indústria e o produto, no ambiente atual é improvável que eles sejam usados.

Hendges (2014) aponta que o malte é obtido pela germinação do grão de cevada. O processo de malteação visa desenvolver enzimas para a hidrólise dos compostos do malte, e acontece em três etapas fundamentais: maceração, germinação e secagem.

A Tabela 4 apresenta uma comparação entre a composição média do grão de cevada com a do grão de cevada já maltado.

Tabela 4 – Comparação das características do grão de cevada e do malte.

Características	Cevada	Malte
Massa do grão (mg)	32 – 36	29 – 33
Umidade (%)	10 – 14	4 – 6
Amido (%)	55 – 60	50 – 55
Açúcares (%)	0,5 – 1,0	8 – 10
Nitrogênio total (%)	1,8 – 2,3	1,8 – 2,3
Nitrogênio solúvel (% de N total)	10 – 12	35 – 50
Poder diastásico (°Lintner)	50 – 60	100 – 250
α -amilase (unidades de dextrina)	Traços	30 – 60
Atividade proteolítica	Traços	15 – 30

Fonte: Cereda (1983); Almeida e Silva (2005).

Conforme Kreisz (2009) a qualidade do malte tem grande influência na qualidade da cerveja, assim como em diferentes etapas do processo: filtração do mosto e da cerveja, e também na fase de fermentação, bem como nas características da cerveja como o sabor, a cor, a espuma e a estabilidade.

Briggs et al., (2004) comentam que quando são utilizados xaropes na elaboração de cerveja, a cor pode ser ajustada com outros açúcares ou corante caramelo. Outra forma de ajustar a cor é a utilização de maltes especiais que conferem maior intensidade de cor ao mosto cervejeiro. O malte tipo *Pilsen*, o mais utilizado no mundo, tem entre 2,5 e 3,5 graus EBC de cor. A Tabela 5 resume as características de um grupo de maltes especiais, segundo Kunze (1999).

Freeman (2002) refere diferentes análises que são feitas nos diferentes maltes e cita, o conteúdo de extrato, a diferença de extrato para moagem fina e grossa, a umidade, a cor, o poder diastásico e α -amilase, conteúdo de proteínas geral e solúveis, entre outros.

Tabela 5 – Características de maltes especiais quanto à intensidade de cor e a temperatura máxima em sua obtenção.

Maltes	Temperatura máxima na malteação (°C)	Cor (EBC)
Malte Munich	100 – 105	15 – 25
Malte Vienna	90	5,5 – 6,0
Maltes Caramelos:		
Carapils®	60 – 80	3 – 5
Caramelo claro	100 – 105	25 – 30
Caramelo escuro	150 – 180	80 – 150
Malte tostado	175 – 200	1300 – 2500

Fonte: Adaptado do Kunze (1999).

A Tabela 6 apresenta alguns dos análises típicas para três tipos de maltes diferentes.

Tabela 6 – Análises típicos de alguns maltes tradicionais (ASBC).

Parâmetro/Cerveja	U	<i>Lager</i>	<i>Pale Ale</i>	<i>Munich</i>
Umidade	%	4,5 máx	3,0 máx	6,0 máx
Extrato, moagem fina, base seca	%	80,5	82,0	79,0
Diferença moagem fina-grossa	%	1,0 – 2,5	1,0 – 2,0	1,0 – 3,0
Cor	°	1,0 – 2,0	2,0 – 3,0	6,0 – 8,0
Proteína total, base seca	%	11,0	10,0	11,5
Proteína solúvel/total	%	38 – 42	40 – 44	40 – 44
Poder diastásico	°	90	60	40

Fonte: Freeman (2002).

2.3.3 Adjuntos

Stewart (2018), no contexto cervejeiro, considera os adjuntos são fontes alternativas de extrato fermentável e são utilizados para substituir uma porção do malte de cevada, que geralmente é uma matéria-prima mais cara.

Conforme Stewart (2016) desde o início do século XX, vem se incrementando o uso de cereais diferentes do malte na produção de cerveja. Esses materiais são denominados como adjuntos, e segundo o autor, muitas cervejas produzidas atualmente contém esta fonte alternativa de carboidratos em suas formulações. Kordialik-Bogacka e Bogdan (2017) referem que devido à grande pressão exercida sobre as cervejarias para diminuir os custos de produção, esta indústria vem aumentando a utilização de adjuntos.

Se lhe perguntar a um cervejeiro se é possível fazer cerveja com adjuntos, receberás um grande número de respostas. Se perguntar aos microcervejeiros, eles lhe dirão que podem ser feitas boas cervejas com a utilização de adjunto. Se a pergunta é feita para os macrocervejeiros eles lhe dirão que não será possível obter uma cerveja *Lager* límpida e refrescante sem utilizar adjuntos; além disso será acrescentado que o arroz é o adjunto de sua preferência. Perguntas feitas para outros macrocervejeiros, receberá como respostas que as cervejas *Lager* Americanas e os licores de malte, nunca poderão ser elaborados conforme o estilo, se não são utilizados adjuntos, e que os adjuntos que usam são elaborados na medida de suas necessidades (BRADEE et al., 2002, p. 87).

Conforme Briggs et al., (2004) e Kordialik-Bogacka e Bogdan (2017) os adjuntos são matérias-primas, diferentes do malte, que fornecem extrato ao mosto cervejeiro. Martínez et al. (2011) confirmam que o uso adjuntos é bem antigo e que são utilizados com o objetivo de obter etanol de uma fonte de açúcares mais econômica que a do malte.

Meussdoerffer, Zarnkow e Eßlinger (2009) atribuem o emprego de adjuntos é devido a estas três razões:

- a) preço favorável; a disponibilidade em áreas onde não se cultive o malte; o aporte de características diferentes de cor e sabor; e que pode ajudar na elaboração de cervejas especiais.

Pesquisadoras confirmam que entre 85 e 90 % das cervejas, elaboradas no mundo, contém adjunto em sua formulação (KORDIALIK-BOGACKA; BOGDAN, 2017). Entretanto, existe uma variação na utilização de adjuntos nos diferentes continentes. Na Europa se usa entre 10 e 30 % de adjunto, já nos EUA e na Austrália se utiliza entre 40 e 50%, e na África pode chegar a proporções entre 50 e 75 %.

No Brasil, o Decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009, dita que, parte do malte de cevada poderá ser substituído por adjuntos cervejeiros, cujo emprego não poderá ser superior a quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo. Consideram-se adjuntos cervejeiros a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal.

Os adjuntos mais usados são derivados de grãos de cereais: milho, arroz, trigo, cevada e sorgo, são comumente utilizados (BRADEE et al., 2002). Dragone e Almeida e Silva (2010) destacam outros adjuntos denominados de não convencionais como o arroz preto, a banana, a pupunha, o pinhão e o caldo de

cana. Na atualidade são utilizados adjuntos que já foram pré-processados antes de adquiridos pela cervejaria. Além disso, o adjunto é escolhido segundo o tipo de cerveja a ser elaborada, a disponibilidade do adjunto, e os equipamentos disponíveis na cervejaria. Aizemberg (2015) utilizou caldo e melado de cana como adjuntos de malte na elaboração de cerveja, demonstrando a possibilidade de utilizar estas matérias-primas provenientes da cana-de-açúcar, na indústria cervejeira.

Segundo Hendges (2014) 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. O autor define o milho como um dos adjuntos mais utilizados na indústria cervejeira, que junto com outros cereais como o trigo e o arroz branco, são denominados de adjuntos convencionais. Adjuntos não convencionais são considerados cereais diferentes daqueles empregados frequentemente na produção de cervejas, podendo-se citar o 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.

Estudos recentes mostraram que o mercado de cerveja artesanal no Brasil cresceu, e no caso de universidades e microcervejarias estão inovando em fórmulas usando novos adjuntos na elaboração de cerveja (ALMEIDA; ALMEIDA e SILVA, 2017). Conforme os autores estão sendo desenvolvidas pesquisas, na planta de bebidas da Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo (EEL-USP), utilizando adjuntos não convencionais como melado de cana, permeado de soro de leite, pupunha, quinoa, pinhão (*Araucaria angustifolia*), arroz preto, entre outros. Embora, até agora, não exista produção comercial dessas bebidas, futuramente estes adjuntos poderão adicionar novas características sensoriais à bebida além de contribuir com a diminuição dos custos de produção.

Bradee et al., (2002), e Briggs et al., (2004) os separam os adjuntos cervejeiros segundo a etapa onde são adicionados no processo, em:

- a) adjuntos adicionados na tina de mosturação: são aqueles derivados de cereais mas que têm de ser hidrolisados no processo de mosturação.
- b) adjuntos adicionados na tina de fervura, são geralmente xaropes já hidrolisados, sendo o milho o cereal mais utilizado na fabricação destes adjuntos.

Conforme Kordialik-Bogacka e Bogdan (2017) os adjuntos podem ser diferenciados de acordo seu estado, podem ser sólidos ou líquidos. O primeiro grupo inclui cereais não malteados como a cevada, o milho, o arroz e, em menores quantidades, o trigo, a aveia, o sorgo, o centeio, o tritcale, os pseudocereais (trigo sarraceno, amaranto e quinoa), a mandioca, o teff e o açúcar granulado (sacarose). Estes adjuntos, exceto o açúcar granulado, requerem ser sacarificados com enzimas exógenas ou no processo de mosturação, e por esse motivo são denominados adjuntos da tina de mosturação. Os adjuntos líquidos inclui xaropes a base de sacarose, derivados da cana-de-açúcar ou da beterraba, e xaropes de amido hidrolisado, tais como extrato de malte e xaropes obtidos de cereais hidrolisados. Ainda segundo a referência, a adição de açúcar granulado ou xarope de sacarose pode ser uma forma eficiente de elevar a concentração do mosto cervejeiro.

A Tabela 7 apresenta as características de alguns adjuntos na forma de açúcar e de xarope.

Tabela 7 – Características de adjuntos cervejeiros ricos em açúcares, encontrados na forma cristalina e xarope.

Tipos	Nitrogênio Total (%) m/m	Cor solução 10% m/v (Unidades EBC)	Fermentáveis (%)	Densidade Específica (20 °C)
Tipos de açúcares				
Xarope de açúcar refinado de cana	0,01	3	95+	1,33
Açúcar líquido invertido	0,01	3 – 12	95+	1,43
Açúcares misturados	0,01	3 – 12	95+	1,42
Xarope cervejeiro de amido de milho hidrolisado	0,02	Cor baixa deve se ajustar	77 – 78	1,42
Glicose de confeitiro	<0,01	Cor baixa	30 – 50	1,43
Açúcar líquido cervejeiro	0,02	Cor baixa deve se ajustar	86 – 87	–
Cubos de glicose	0,01	20 – 50	82	–
Outros materiais				
Xaropes baseados em cereais	0,4 – 0,8	4	65 – 70	1,40
Extrato de malte	0,65 – 1,3	4	70	1,40
Corante caramelo 46,000	–	4600	–	1,29
Corante caramelo 32,000	–	3200	–	1,36

Fonte: Briggs et al., (2004).

A adição de açúcar solúvel ou xarope no mosto cervejeiro, incrementa a capacidade da sala de cozimento, ajusta a concentração de açúcares fermentescíveis do mosto e origina um método simples para gerar mostos concentrados (BRIGGS et al., 2004; MARTINEZ, 2014).

2.3.4 Xarope de milho

Conforme Hendges (2014) o milho é o adjunto mais utilizado na indústria cervejeira. Martínez (2014) elaborou mostos super concentrados para alcançar altos níveis de etanol na cerveja. Na pesquisa o autor utilizou como adjunto o xarope de milho com concentração de 65 °P.

No Brasil, é permitido que parte do malte utilizado na elaboração de cerveja, possa ser substituída por cereais malteados ou não malteados como: o milho, o arroz, o trigo, o centeio, a aveia e o sorgo e também por carboidratos de origem vegetal transformado ou não (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010). Ao analisar, cervejas reconhecidas do mercado, os resultados sugeriram que na produção de muitas dessas marcas estão no limite da porcentagem permitida de milho, que segundo a legislação nacional limita em 45 % a proporção de adjunto (FIGUEIREDO, 2015).

Segundo Stewart (2006) o xarope de milho é utilizado na indústria cervejeira desde mediados da década de 1950. A fonte aponta que inicialmente o xarope era obtido por hidrólise ácida e que com o desenvolvimento da indústria de obtenção de enzimas, esta passou a ser utilizada para a hidrólise e isto fez com que se conseguisse aumentar ainda mais o rendimento de dextrose equivalente.

Kunze (1999) relata que o xarope de milho é elaborado com o milho moído e que o amido obtido é hidrolisado a açúcares. Os processos de hidrólises usados podem ser via ácida, enzimática, ou uma combinação deles.

Bradee et al., (2002), apresentam na Tabela 8 as características de alguns xaropes de milho utilizados nas cervejarias e os classificam pela sua equivalência em dextrose (EDX) e pelo seu perfil de carboidratos.

Tabela 8 – Características físico-químicas dos xaropes de milho comerciais.

Produto	28/41	43/41	43% HM	55% HM	53/44	60/44	63/44	95% Dex	99% Dex	Alta Fruct
Forma de obtenção	A	A/E	A/E	E/E	A/E	A/E	A/E	E/E	E/E	E/E
Equival. em dextrose (EDX)	28	43	43	43	53	60	63	98	99+	95+
Grau Baumé	42,2	43	43	43	44	44	44	37	37	37
% Sólidos totais	78,4	80,7	80,9	81	84,5	84,6	85	71	71	71
Comp. de Carboidrat										
Glicose %	8	19	9	3	24	31	36	95	99	94
Maltose %	8	14	43	56	31	36	31	3	0,6	3
Maltriose %	11	12	18	19	20	10	13	0,5	0,2	X
Polissacarídeos %	73	55	30	22	25	23	20	1,5	0,1	3
Extrato Fermentável**	27	45	70	78	75	77	79	98+	99+	97+
Viscosidade Centipoise a 38°C	40,0	24,0	11,5	7,0	32,0	22,0	20,0	X	X	95,0

Fonte: Bradee et al., (2002) e folha técnica de Produtos Cargill.

Nota: A - Ácido,

E- Enzima,

** - % base sólida.

O EDX é um indicador da porcentagem dos açúcares presentes em base de sólidos secos que são açúcares redutores medidos como dextrose. Pode-se observar na Tabela 8, a porcentagem de açúcares fermentescíveis dos diversos xaropes de milho encontrados no mercado, que deverão ser selecionados de acordo com o tipo de cerveja a ser elaborada.

Além disso, os mesmos autores, apresentam na Tabela 9 as aplicações de alguns adjuntos, de acordo com o tipo de cerveja a elaborar.

Tabela 9 – Aplicações dos adjuntos de acordo com os tipos de cervejas.

TIPO DE CERVEJA	ADJUNTO
ENCORPADA	XAROPE DE 53 A 65 % DE DEXTROSE. ALTA MALTOSE, AÇÚCARES REFINADOS
LEVE/DE BAIXAS CALORIAS	95 % A 99 % DEXTROSE E AÇÚCARES REFINADOS
BAIXO/SEM ÁLCOOL	XAROPES DE 20 A 36 % DE DEXTROSE.
CERVEJAS ESPECIAIS	QUALQUER DOS ANTERIORES

Fonte: Bradee et al., (2002).

2.3.5 Xarope de cana

O melado é um subproduto da cana-de-açúcar usualmente obtido a partir da evaporação do caldo da cana (ANVISA, 2005). Segundo Fagundes (2010) e Aizemberg (2015) o melado é um alimento doce, de cor escura, com textura semelhante à do mel, podendo ser utilizado de diversas maneiras na alimentação humana.

O melado é definido pela ANVISA (2005) como “Produto obtido pela concentração do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) ou a partir da rapadura derretida”.

Pela definição, o melado é um xarope de cana-de-açúcar, e conforme Fagundes (2010) deve ser produzido com matérias-primas não fermentadas, isentas de matéria terrosa, parasitas e detritos de origem vegetal ou animal; sendo também proibida a adição de aditivos químicos, tais como corantes, essências, conservantes e adoçantes.

A Tabela 10 apresenta uma comparação entre a composição nutricional do açúcar refinado e o melado de cana.

Ainda, segundo a fonte, além do melado, o açúcar mascavo e a rapadura, produtos provenientes da cana, são considerados alimentos puros, e preservam os nutrientes apresentando valor nutricional superior ao açúcar refinado, o qual se caracteriza apenas pelo seu poder adoçante e energético, o que pode ser facilmente comprovado na tabela anterior.

Tabela 10 – Composição nutricional do açúcar refinado e do melado, por 100g dos produtos.

Nutriente	Açúcar Refinado	Melado de cana
Energia (Kcal)	387	296
Carboidrato (g)	99,5	76,6
Proteína (g)	Traços	0
Lipídeo (g)	Traços	0
Fibra (g)	0	0
Cálcio (g)	4	102
Ferro (mg)	0,1	5,4
Magnésio (mg)	1	115
Manganês (mg)	—	2,62
Fósforo (mg)	Traços	74
Potássio (mg)	6	395

Fonte: Fagundes, (2010); Aizemberg (2015).

No processo produtivo, após a colheita, os colmos da cana devem passar por um processo de limpeza, a fim de se eliminar as sujidades, como barro, palha e ceras (Gobato et al., 2003; Bragança, 2007). Fagundes (2010) aponta que para a obtenção do caldo, os colmos devem ser esmagados em uma moenda bem ajustada para possibilitar um melhor rendimento da etapa. O caldo extraído deve ser peneirado para a retirada de impurezas grosseiras e então aquecido até 70 °C, adicionando-se ácido cítrico para evitar a cristalização da sacarose. Depois o caldo é deixado em repouso por 30 minutos para que ocorra a decantação de impurezas, sendo que neste momento pode ser adicionado cal para melhorar a sua purificação. A continuação, o caldo é colocado em tachos de ferro ou cobre e aquecido, e então submetido a evaporação até que as concentrações de sólidos solúveis chegue entre 65 e 74 °Brix. O xarope de cana é então resfriado a temperatura de 90 °C e envasado em frascos herméticos.

Pela concentração alcançada o xarope de cana, é uma opção interessante para ser utilizado em processos produtivos que irão usar este xarope em algum tipo de alimento como matéria-prima. Aizemberg (2015) utilizou o caldo e o melado de cana-de-açúcar como adjuntos de malte em um processo de produção de cerveja. Segundo a autora, no teste sensorial a cerveja elaborada com 75 % de malte e 25 % de melado foi a melhor avaliada em quanto a aceitação e intenção de compra. Além disso a fonte destaca a importância das características do melado, devido a suas concentrações elevadas de açúcares o que facilita o manuseio, o transporte e o armazenamento.

2.3.6 Lúpulo

Embora se acredite que já se fabricava cerveja na Babilônia em 7000 a. C, o lúpulo certamente não foi usado na fabricação de cerveja até muito mais tarde (ROBERTS e FALCONER, 2018). Há algumas evidências que sugerem que o lúpulo foi cultivado na Europa central antes do ano 1. 000 depois de Cristo (d. C.) , mas não está claro se este foi usado na produção de cerveja ou apenas para uso medicinal. O lúpulo provavelmente foi cultivado pela primeira vez na Alemanha e na República Tcheca em algum momento entre 1. 000 e 1. 200 d. C.

Segundo Hornsey (1999) o cultivo de lúpulo (*Humulus lupulus*) foi primeiramente documentado no ano 736 na Região de Hallertau, na Baviera, embora já houvesse sido mencionado anteriormente em algumas sagas escandinavas de até 1.000 anos a.C. Segundo a fonte, o lúpulo foi cultivado e usado para fazer cerveja na Bavária, Eslovênia e Boêmia entre os séculos IX e XII, e desses centros cervejeiros foi expandido por toda a Europa. Bedini et al., (2015) confirmam que o lúpulo é uma planta de trepadeira perene, utilizada na indústria de fabricação de cerveja para adicionar sabor e amargor à cerveja.

Brigss et al, (2004) confirmam que na época Medieval a cerveja era produzida sem lúpulo, e rapidamente acidificava e virava vinagre de malte. Muitas ervas foram utilizadas na tentativa de prolongar a vida útil de prateleira da cerveja, mas apenas o lúpulo é utilizado em grande escala nas cervejarias, embora algumas microcervejarias utilizem outras ervas.

Conforme Grant (2002) para a elaboração de cerveja são utilizadas as flores das plantas femininas do lúpulo, que são nativas de algumas áreas templadas do norte do planeta (Norte de Europa, América do Norte, Ásia Central e Japão). Acredita-se que o lúpulo começou a ser utilizado na Alemanha no século XII, e embora fossem utilizados outros materiais para conferir sabor às bebidas há 10.000 a.C., o uso do lúpulo para elaborar a bebida, que hoje é conhecida como cerveja, ganhou popularidade nos séculos seguintes. Ainda, segundo o autor, é provável que o lúpulo tenha ganhado popularidade, devido ao seu poder bacteriostático, exercido por compostos químicos como os alfa-ácidos, que depois de isomerizados em iso-alfa-ácidos e em concentrações muito pequenas, cerca de 20

ppm, impedem o crescimento de muitos microrganismos que poderiam estragar a cerveja.

Barth, Klink e Schmidt (1994) confirmam que o lúpulo é cultivado, apenas para satisfazer as exigências da indústria de cerveja. Briggs et al. (2004) relatam que no início, o lúpulo era comercializado na forma de cones secos da planta feminina, mas hoje a maior parte do lúpulo é obtido em péletes ou extratos. Apesar do lúpulo provavelmente ter sido usado primeiramente devido ao valor de conservação da bebida, eles proporcionaram também a sensação do amargor e de um sabor agradável, muito apreciado, e provavelmente devido a esta razão é que seu uso tenha sido continuado até os dias de hoje.

A Tabela 11 apresenta a composição química do lúpulo em flor. Pode-se citar como as substâncias mais importantes os óleos essenciais, as resinas amargas, os polifenóis e as substâncias minerais (ALMEIDA e SILVA, 2005). O autor comenta que apesar de serem altamente voláteis, e ocorrer perdas de 96 a 98 % no decorrer do processo cervejeiro, os óleos essenciais conferem ao mosto e a cerveja o caráter aromático do lúpulo. Os polifenóis são ricos em substâncias tânicas, protetoras da cerveja. As resinas brandas do lúpulo, representadas pelos α -ácidos ou pelas humulonas, após a isomerização, tornam-se solúveis e responsáveis pelo amargor da bebida.

Tabela 11 – Composição química do lúpulo em flor.

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

Fonte: Almeida e Silva (2005).

Acredita-se que as substâncias amargas e os óleos essenciais são os principais compostos do lúpulo, mas que sua composição depende de diferentes fatores tais como a variedade, proveniência, época de cultivo, secagem e armazenamento (KROTTENTHALER, 2009). O autor destaca que em 2005 o lúpulo

era cultivado em mais de 50 países, mas o seu cultivo vem sendo reduzido devido à preferência geral, para a diminuição do amargor nas cervejas.

Conforme Schönberger e Kosteletzky (2011), para os cervejeiros, o aroma e as características do lúpulo são de grande importância na elaboração da cerveja, o que faz que o 97 % do lúpulo cultivado no mundo seja utilizado na fabricação da bebida. Muitos cervejeiros selecionam seus lúpulos por avaliação sensorial, sabendo por experiência quais as características do lúpulo que eles procuram, para garantir o aroma de suas cervejas. A questão de quais características do lúpulo que se correlacionam com o aroma desta na cerveja, não pode ser respondida satisfatoriamente, já que o processo de fabricação e os regimes de adição oferecem tantos parâmetros para considerar que as conclusões gerais não podem ser desenhadas. No entanto, com a capacidade atual de identificar centenas de compostos do óleo de lúpulo, tornou-se possível rastrear o destino de compostos individuais durante o processo de fabricação de cerveja. Ainda, segundo os autores, os aromas proporcionados pelo lúpulo à cerveja podem ser resumidos como:

- a) os sabores a gramíneo verde, podem ser atribuídos a aldeídos como o hexanol;
- b) os sabores cítricos, podem ser atribuídos a ésteres, nerol e linalol;
- c) os aromas florais e frutados podem ser atribuídos a linalol, geraniol, β -ionone, citrionelol, 4 MMP, 3 MH e outras cetonas, epóxidos e ésteres;
- d) os aromas de ervas podem ser atribuídos a sesquiterpenos oxidados.

A Tabela 12 apresenta um grupo destes compostos e os limites em que podem ser percebidos nas cervejas.

Uma das principais contribuições do lúpulo para a cerveja é o amargor (SCHÖNBERGER; KOSTELECKY, 2011). A referência confirma que pesquisas desenvolvidas sobre o tema, revelaram que os iso-alfa-ácidos embora seja o principal contribuinte do amargor na cerveja, não é a única fonte.

Tabela 12 – Compostos aromáticos relevantes encontrados em cervejas elaboradas com elevadas concentrações de lúpulo.

Características Sensorial	Composto	Limite
Groselha preta	4-mercapto-4-metilpentan-2ona (4 MMP)	10 – 50ppb
Groselha preta, moscatel	3-mercapto-1-hexanol (3 MH)	55ppb
Resinoso	Mirceno	30 – 1.000ppm
Floral, cítrico	Linalol	8 – 80ppm
	Geraniol	4 – 40ppm
Floral, rosa	2-metil-butanoato de etilo	1ppm
	4-metil-pentanoato de etilo	1ppm
Afrutado, erval	Óxido de rosa cis	5 – 50ppb
Lúpulo, abacaxi	(E Z) -1 3 5-undecatriene	n/d
Queijo	Ácido 2-metilbutírico	n/d
Uva tabaco, chá preto	Beta-damascenone / Álcool fenetílico	n/d
Cedro	Caryophylla-3,8-dien-(13)-dien-5-beta-ol	n/d
Queijo/cebola/alho	Vários compostos de enxofre	n/d

Fonte: Schönberger e Kosteletzky (2011).

Nota: n/d - não existem dados.

O nível de amargor da cerveja é medido em unidades internacionais de amargor (IBU, International Bitterness Units). Muitas vezes, para simplificar, são mencionados simplesmente como BU, e é uma medida de concentração de iso- α -ácidos em partes por milhão, ou seja um miligrama de iso- α -ácidos por litro de cerveja (CERVEZA..., 2013).

O lúpulo foi utilizado durante séculos para conferir o amargor na cerveja, no entanto, durante os últimos 25 anos, a apreciação dos consumidores diminuiu significativamente (SCHÖNBERGER; KOSTELECKY, 2011). Na maioria das cervejas, a intensidade de amargor era entre 20 e 60 unidades de amargor (BU), a que tem diminuído e na atualidade encontra-se aproximadamente entre 6 e 30 BU.

A Tabela 13 apresenta alguns compostos, do lúpulo, que aportam amargor seus limites e a concentração média em diferentes tipos de cervejas comerciais.

Schönberger e Kosteletzky (2011) comentam que ao distinguir os compostos do lúpulo e sua concentração típica em uma cerveja *Lager*, é evidente que as isohumulonas são responsáveis pela principal fonte do sabor amargo da cerveja, porém é provável que outros compostos, com propriedades de proporcionar amargor, tenham um efeito aditivo. Embora as isohumulonas sejam consideradas compostos com um grande poder de amargor, deve-se notar que os isômeros individuais têm diferentes intensidades de percepção de amargor. Os isômeros *cis* são geralmente mais amargos do que os isômeros *trans*. Colocando como exemplo, as unidades de amargor das cervejas artesanais dos EUA, onde se fazem várias

adições de lúpulo durante a fervura do mosto, pode-se ver que as humulonas não isomerizadas também podem contribuir para o amargor da cerveja, embora seus limiares de sabor raramente sejam alcançados em metodologias tradicionais para elaborar cerveja.

Tabela 13 – Compostos amargos na cerveja, limites e concentração típica.

Compostos	Limite (ppb)	Concentração típica em cervejas <i>Lager</i>	Concentração em cervejas artesanais dos EU
Cohumulona	17	1	10
Humulona	21	2	10
Adhumulona	21	1	2
<i>cis</i> -isocohumulona	7	31	15
<i>cis</i> -isohumulona	10	33	18
<i>cis</i> -isoadhumulona	8	11	10
<i>trans</i> -isocohumulona	19	15	9
<i>trans</i> -isohumulona	20	14	12
<i>trans</i> -isoadhumulona	15	5	2
Colupulona	39,3	0	1
Lupulona	35	0	Desconhecido
Adlupulona	37	0	Desconhecido
Cohulupulona	7,9	7	7
Ácido alupínico	68,5	0	Desconhecido
Nortricyclocolupulona	90,3	0	Desconhecido
Dehydrotricyclocolupulona	40,6	0	Desconhecido
Tricyclocolupulona	37,9	3	Desconhecido
Hydroperoxytricyclocolupulona	20,7	0	Desconhecido
Hydroxytricyclocolupulona	14,7	8	Desconhecido
Xanthohumol	10	0	2
Isoxanthohumol	16	2	5
8-Prenylnaringenin	7,5	0	Desconhecido

Fonte: Schönberger e Kostecky (2011).

Bedini et al., (2015) afirmam que só o 15 % dos compostos do lúpulo são diluídos na cerveja. Martínez (2014) quando preparou alguns tipos de mostos, percebeu e apresentou alguns dos fatos que influenciam na extração dos compostos do lúpulo:

- o tempo e a intensidade da fervura: Quanto maior o tempo e a intensidade, maior a possibilidade de transformar os α -ácidos em *isso*- α -ácidos;
- a forma em que o lúpulo é utilizado, porque podem ser encontrados na forma de pellets ou de cones inteiros secos: É mais fácil extrair os α -ácidos dos pellets porque se decompõem mais rapidamente;
- a densidade do mosto na tina de fervura. Quanto mais elevada a densidade do mosto, menor será a extração dos compostos do lúpulo;

- d) quantidade de lúpulo a utilizar. Quanto maior é a quantidade de lúpulo colocada na fervura, menor será a transformação dos α -ácidos em iso- α -ácidos.

Na elaboração de mostos concentrados podem ocorrer perdas de substâncias amargas durante a fervura, quando comparado com aqueles mostos com concentrações habituais (ALMEIDA e SILVA, 2005; MARTÍNEZ, 2014). Hudson (1965) confirmou que a diminuição do amargor em cervejas concentradas, pela menor diluição das substâncias amargas, que pode ser explicada pela maior formação de seus complexos com proteínas. Segundo o autor o incremento da concentração do mosto implica em menor utilização do lúpulo.

Para evitar perdas elevadas das substâncias amargas, Palmer e Rennie (1974), recomendaram que na elaboração da cerveja obtida de mosto concentrado, deve-se manter a adição do lúpulo na quantidade usada para mostos de densidade normal e fazer um ajuste final do amargor, com extrato de lúpulo isomerizado, no momento da diluição da cerveja.

Segundo Mitter e Cocuzza (2009) os cervejeiros que utilizam apenas lúpulo em folhas ou péletes tem opções limitadas para corrigir a bebida, principalmente diante de colheitas ruins. Uma opção para reagir neste caso diante da escassez de lúpulo é a utilização de lúpulo isomerizado.

2.4 Levedura

As leveduras são micro-organismos unicelulares eucariontes, desprovidos de clorofila e podem ser encontrados quase em todo lugar no ambiente. A habilidade de converter açúcar em etanol é a característica de um pequeno grupo de micro-organismos, sendo a *Saccharomyces cerevisiae*, a que mais se destaca pela boa produtividade e ao mesmo tempo pela tolerância à alta concentração de etanol (AIZEMBERG, 2015).

Para fins práticos, as leveduras podem ser definidas como fungos unicelulares, em que a reprodução vegetativa (assexuada) ocorre principalmente por brotação (DEÁK, 2008). Ao longo dos anos, a classificação taxonômica e nomes de levedura para a produção de cerveja mudaram várias vezes. A levedura cervejeira pertence ao grupo de *Saccharomyces cerevisiae*, no entanto, as estirpes

diferem acentuadamente de laboratório para laboratório, e das espécies não cervejeiras, devido à seleção ao longo dos séculos e com as condições específicas das cervejarias.

Segundo Kunze (1999) a levedura é um micro-organismo unicelular que obtém a energia que ela necessita por duas vias: em presença de oxigênio (respiração) e na ausência de oxigênio (fermentação). Durante a fermentação na produção de cerveja os açúcares são transformados em etanol e para esse fim são usadas leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. O autor destaca que além do etanol a levedura produz outro grupo de compostos importantes para as características e também para o sabor da cerveja e que por isso são importantes os conhecimentos de sua estrutura, composição, seu metabolismo e seu crescimento. Ainda, segundo a fonte, as células de levedura possuem forma oval, com comprimento entre 8 e 10 μm e largura entre 5 e 7 μm . A Figura 4 apresenta a estrutura de uma célula de levedura com suas principais organélas.

Conforme Deák (2008) a ação das leveduras no processamento de alimentos causa alterações importantes nas características físicas, químicas e organolépticas. Em comum com outros fungos as leveduras são organismos aeróbios que metabolizam seus nutrientes oxidativamente. A fonte destaca que ao contrário do que se acredita, apenas cerca da metade de todas as espécies de leveduras conseguem fermentar açúcares, e estas são denominadas de aeróbicas facultativas. As leveduras tem originado um grande interesse pela sua capacidade que tem algumas espécies de fermentar açúcares a etanol e dióxido de carbono, especificamente as *Saccharomyces*, por isso sua utilização na obtenção de bebidas fermentadas e pão. Ainda, segundo o autor, a levedura tem a capacidade de criar uma ampla gama de metabolitos e utilizar uma grande diversidade de fontes para obter sua energia em diferentes condições ambientais.

Figura 4 – Célula de levedura.

Fonte: Kunze (1999).

Nota: 1 – Citoplasma.

2 – Parede celular.

3 – Membrana citoplasmática.

4 – Cicatriz do brotamento.

5 – Mitocôndria.

6 – Vacúolo.

7 – Grânulos de polimetáfosfato.

8 – Grânulos de lipídeos.

9 – Retículo endoplasmático.

10 – Núcleo.

11 – Membrana nuclear.

12 – Nucléolos.

A Tabela 14 apresenta alguns processos metabólicos da levedura que conduzem à deterioração alimentar.

Russell (2018) confirma que o mosto cervejeiro contém dextrinas e açúcares como a sacarose, a frutose, a glicose, a maltose e a maltotriose. O autor acredita que, em situação normal, as espécies de levedura cervejeira são capazes de utilizar a sacarose, a glicose, a frutose, a maltose e a maltotriose nesta sequência aproximada.

Tabela 14 – Processos metabólicos da levedura.

Processo	Reações características
Metabolismo energético	
Fermentação	Etanol, CO ₂ , Produtos voláteis organolépticos
Respiração	Ácidos orgânicos, Ésteres, Carbonilos
Metabolismo de Nitrogênio	
Proteínas	Produtos proteolíticos
Amino ácidos	Álcoois superiores, ácidos orgânicos, amina
Degradação de polisacarídeos	
Amido	Atenuação da cerveja
Pectina	Amaciamento de textos vegetais
Degradação de lipídeos	
Hidrólise de triglicerídeos	Liberação de ácidos graxos livres
Metabolismo do enxofre	
Amino ácidos, SO ₂	H ₂ S, Dimetil sulfúrico
Autólise	
Células de levedura	Ácidos graxos, tiamina (sabor a levedura)

Fonte: Déak (2008).

A Figura 5 apresenta a absorção dos açúcares fermentáveis, pelas estirpes de leveduras *Saccharomyces*.

Figura 5 – Absorção dos carboidratos pelas estirpes *Saccharomyces*.

Fonte: Adaptado de Russell (2018).

A levedura para consumir os açúcares deve transportar estes através de sua membrana celular (Russell, 2018). A glicose, a maltose e a maltotriose, são transportadas diretamente através da membrana celular, enquanto a sacarose tem que ser hidrolisada pela enzima invertase, localizada no espaço periplasmático celular da levedura, em glicose e frutose e então estes açúcares são transportados através da membrana para o interior da célula.

Ainda segundo a fonte, a glicose e a sacarose sempre são consumidas primeiro. A levedura prefere a glicose e a absorção desta retarda o consumo da frutose, pois estes dois açúcares têm os mesmos agentes transportadores, que tem maior afinidade pela glicose. A presença de glicose e frutose na fermentação causam a repressão da gliconeogênese, o ciclo do glioxilato, a respiração e a absorção de carboidratos menos preferidos, como a maltose e a maltotriose. Além disso, a glicose e a frutose ativam o crescimento celular, mobilizam compostos de armazenamento e diminuem a resistência ao estresse celular.

A maltotriose e a maltose são os açúcares em maior quantidade no mosto cervejeiro, e a capacidade da estirpe de fermentar esses dois açúcares é vital no processo (Russell, 2018). A fermentação de maltose, pelas leveduras *Saccharomyces*, requer pelo menos um dos cinco genes loci MAL. Outras estirpes que fermentam a maltose, podem possuir um loci MAL, mas frequentemente podem possuírem dois ou mais. Um loci MAL típico é um grupo de três genes, todos necessários para a fermentação da maltose. O gene 1, codifica o transportador da permease da maltose; o gene 2 codifica a enzima maltase (α -glucosidase); e o gene 3 codifica o regulador / ativador da transcrição dos outros dois genes. O autor comenta que a atividade da maltose permease e a α -glucosidase é induzida pela maltose e reprimida pela glicose. A absorção e hidrólise da maltose e maltotriose do mosto depende, em parte, da concentração de glicose. Quando a concentração de glicose é maior que 1 % (m/v), os genes MAL são reprimidos, e iniciam suas ações somente quando 40 % a 50 % da glicose é consumida. Assim, a presença de glicose no mosto exerce um efeito repressor na taxa de fermentação.

Os mais importantes nutrientes para as leveduras são os carboidratos que servem como fonte de carbono e energia. Poucos açúcares são fermentados pelas leveduras, fundamentalmente hexoses e alguns oligossacarídeos, entretanto em condições aeróbicas a capacidade metabólica aumenta além das hexoses, são fermentados as pentoses, os álcoois, ácidos orgânicos e outros compostos de

carbono (DÉAK, 2008). Aizemberg (2015) considera que o nitrogênio é essencial para a multiplicação e crescimento da levedura. Segundo a fonte, o nitrogênio é obtido de diferentes substâncias orgânicas encontradas na levedura, como os aminoácidos, proteínas, enzimas, pirimidinas, purinas, pigmentos respiratórios (citocromos), lecitinas, vitaminas e cefalinas.

Dowhanick (2002) relata que uma boa levedura cervejeira deve apresentar as seguintes condições ideais:

- a) ser geneticamente estável durante vários ciclos contínuos;
- b) ser capaz de fermentar mostos num período aceitável, e obter níveis de etanol entre 4 e 12 %;
- c) ser capaz de manter um meio de fermentação livre de quantidades de metabólitos indesejáveis responsáveis por sabores de enxofre, fenólicos ou de álcoois amílicos;
- d) ser facilmente removida do meio de fermentação por floculação, centrifugação;
- e) ser suficientemente viável, e depois da recuperação possa ser inoculada novamente no mosto, apresentando um mínimo de autólise e um máximo de confiança.

De acordo com Harrison e Schaechter (2009) as leveduras cervejeiras podem ser classificadas em leveduras de alta e de baixa fermentação. Deák (2008) apresenta as diferenças entre ambas na Tabela 15.

Tabela 15 – Diferenças entre as leveduras cervejeiras *Lager* e *Ale*.

Características	Estirpe <i>Lager</i>	Estirpe <i>Ale</i>
Tipo de fermentação	Baixa	Alta
Floculação	Boa	Menos eficiente
Temperatura de fermentação	Abaixo de 15 °C	Acima de 15 °C
Máxima temperatura de crescimento	32 – 34 °C	38 – 40 °C
Utilização de maltotriose	Mais completa	Menos eficiente
Utilização de melibiose	Sim	Não
Volatilização de compostos de enxofre	Mais	Menos
Transporte de frutose	Simporte ativo de prótons	Difusão facilitada
Esporulação	Nenhum	1 – 10 %

Fonte: Deák (2008).

A levedura *S. cerevisiae* tem sido amplamente utilizada na indústria de bebidas (AVESUKAREE et al., 2009). Durante a fermentação de mostos concentrados a levedura é exposta a uma série de fatores que provocam estresses,

dentre eles a alta concentração de etanol e a alta pressão osmótica, fatores que diminuem o crescimento e a viabilidade celular. Os autores apontam que o maior estresse é causado pelo etanol, que inibe o crescimento e a viabilidade da levedura, e afeta o transporte de glicose e dos amino ácidos para o interior da célula.

Ernandes et al., (2016) comentam que o Brasil é um dos pioneiros na implementação industrial de bioetanol. Os autores comentam sobre a importância da leveduras *S. cerevisiae*, para a obtenção de bons resultados nesta indústria.

O mosto concentrado tem efeitos prejudiciais sobre o metabolismo das leveduras, com implicações diretas sobre a capacidade fermentativa e o crescimento (ABREU et al., 2004). O incremento da pressão osmótica resulta na diminuição ou no impedimento da difusão do álcool endógeno formado para fora da célula, trazendo como consequência a autointoxicação da levedura. A levedura utilizada para fermentar mostos concentrados deve ser capaz de atenuar os carboidratos apropriadamente, flocular, clarificar e sedimentar quando for necessário, além de tolerar elevadas concentrações de etanol e produzir altos teores de etanol (≥ 12 % v/v). Os autores conferiram que estudos realizados com fermentações de vinho alcançaram elevadas concentrações alcoólicas, quando o mosto foi adicionado de açúcar na fase exponencial de crescimento da levedura, e assim puderam ser alcançados teores alcoólicos de até 16 %. Nas mesmas condições, ou seja, de adição de açúcar, se observou que as leveduras cervejeiras são capazes de serem tolerantes em concentrações perto ou superior a 12 % de etanol, embora o limite normal esteja ao redor de 8 a 9 %.

Devantier, Pedersen e Olsson (2005) também observaram que elevadas concentrações de sacarídeos expõem a levedura ao estresse osmótico e ainda provocam a inibição pelo substrato.

A fermentação de mostos super concentrados (VHG) é destinada a aumentar consideravelmente a taxa de fermentação e a concentração de etanol, reduzindo assim os custos de capital e o risco de contaminação bacteriana (TAO et al., 2012). Os autores falam da possibilidade de obter microrganismos geneticamente modificados para gerar elevadas concentrações de etanol no meio.

Zhao et al., (2016) estudaram a atuação de leveduras *Lager*, em mostos concentrados (18 °P) e super concentrados (24 °P), na presença de diferentes açúcares (glicose, sacarose e maltose).

2.5 Fatores que influenciam na elaboração de cervejas concentradas

Transformar o mosto em cerveja é o terceiro passo fundamental na elaboração de cerveja, processo que é denominado fermentação, e onde os microrganismos metabolizam os substratos em produtos com o objetivo de ganhar energia (EBLINGER, 2009). Conforme Almeida e Silva (2005) vários fatores influenciam a fermentação dos mostos, entre os quais podem ser destacados: a composição e concentração do mosto, a temperatura de fermentação, o teor de oxigênio inicial, a concentração e viabilidade celular, e a concentração de etanol.

2.5.1 Concentração do mosto e viabilidade celular

O mosto em parte é caracterizado pela concentração ou pela quantidade de sólidos (extrato) que estão em solução no volume de líquido (BRIGGS et al., 2004). Tradicionalmente para elaborar cerveja são usados mostos com concentrações entre 11 e 12 % de sólidos dissolvidos (INGLEDEW; CASEY; MAGNUS, 1984). Os autores comentam sobre a elaboração de mostos concentrados, com concentrações entre os 16 e 18 % de sólidos dissolvidos, os quais obtêm produtos de qualidade e possuem vantagens econômicas. Por sua vez, Martínez (2014) define os mostos super concentrados, aqueles que tem concentração de extrato original acima dos 18 °P.

É possível produzir mostos concentrados e conseqüentemente obter cervejas concentradas, para posterior diluição depois da fermentação (KUNZE, 1999). Para obter mostos mais concentrados é preciso trabalhar com menor relação de água/malte, para que o primeiro extrato seja obtido mais concentrado e rico em nutrientes.

Krottenthaler et al., (2009) garantem que a filtração do mosto serve para separar os compostos do malte, dissolvidos durante a mosturação, das partes insolúveis (bagaço). As tinas de filtração e filtros de macerado são equipamentos amplamente utilizados. Os autores citaram que a utilização de filtro de macerado é muito interessante para a obtenção de cervejas concentradas. Segundo O'rourke (2003), quando são utilizados filtros de macerado podem ser obtidos mostos com

concentrações mais elevadas do que quando se trabalha com tina de filtração (> 17 °P).

As leveduras cervejeiras são da espécie *Saccharomyces cerevisiae* que devido às suas propriedades de fermentação são especialmente adequadas para a produção de cerveja (BACK, 2009). O objetivo dos cervejeiros é a manutenção da pureza e a viabilidade dessas estirpes, pois a condição da levedura tem uma influência crucial na qualidade da cerveja.

Almeida e Silva (2005) relata que ao aumentar a concentração inicial do mosto, ocorrem efeitos na fermentação, tais como alta pressão osmótica e níveis elevados de etanol, resultando na perda de viabilidade celular da levedura e em fermentações mais lentas. O autor manifesta que as células de levedura *S. cerevisiae* usadas na preparação de cerveja tipo *Lager* quando na presença de elevadas concentrações de etanol, na fermentação de mosto com 25 °P podem resultar numa diminuição da viabilidade e do crescimento celular. Ao fermentar mostos com 16 °P a viabilidade celular se mantém ao redor do 90% depois de 240 h de fermentação.

Ainda, de acordo com o autor, a tolerância ao estresse das leveduras cervejeiras, durante a fermentação do mosto com altas concentrações, depende da estirpe utilizada. Inoculando quatro estirpes tipo *Lager* em mosto com 27 °P, as diferenças na porcentagem da viabilidade celular ao final da fermentação foram de até 80% entre elas. Fermentação com estirpes de levedura *Ale* e *Lager* em mosto com concentrações de 15 a 20 °P tem mostrado que as leveduras *Ale* são menos apropriada para a produção de cerveja super concentrada (mosto com 20 °P). No entanto, a estirpe tipo *Lager* cumpriu os três critérios requeridos para ser satisfatoriamente utilizada neste tipo de fermentação, ou seja:

- a) produz mais etanol em proporção ao aumento da concentração do mosto;
- b) apresenta viabilidade celular aceitável após repetidas inoculações;
- c) a cerveja diluída tem sabor igual ao do produto obtido pelo processo tradicional.

2.5.2 Composição do mosto cervejeiro

Conforme Bamforth (2017) a composição e concentração do mosto cervejeiro é definida pelas matérias-primas utilizadas e pelas condições do processo de brassagem. Barnes (2006) comenta que uma correta composição do mosto é fundamental para a saúde e crescimento da levedura, assim como para o processo de fermentação fornecendo uma cerveja com bom nível de etanol, boa carbonatação e quantidades desejadas de metabolitos que influenciam no sabor e no aroma do produto. O mosto adicionalmente proporciona na cerveja a intensidade de cor, contribui para a estabilidade da espuma e de sabores oriundos do malte, dos adjuntos, do lúpulo, além dos saís contidos na água.

A composição do mosto determina as propriedades da cerveja como produto acabado. O mosto tem de conter a quantidade adequada de açúcares fermentescíveis e nutrientes para a levedura e também para formar os precursores do sabor (MEILGAARD, 2002). O mosto preparado é analisado para ter certeza de que a cerveja vai ter o extrato desejado, quanto à cor, ao sabor e à espuma. A Tabela 16 apresenta os parâmetros que são comumente analisados e é baseada em um mosto de 11 a 12 °P. O autor destaca que para os casos de cerveja concentrada (obtidas de mostos entre 14 e 20 °P) todos os parâmetros devem ser incrementados proporcionalmente, exceto o pH e a reação ao iodo.

Tabela 16 – Parâmetros comumente analisados nos mostos cervejeiros.

Parâmetros	Média	Faixa
Extrato Original (°P)	11,4	11,2 – 12,0
Extrato Aparente depois da Fermentação rápida, (°P)	2,4	1,8 – 3,0
Reação ao iodo	neg.	neg.
pH (20 °C)	5,3	5,0 – 6,0
Cor, °SRM	3,9	3,0 – 5,3
Unidades de Amargor	24	15 – 30
Proteína Total, % em peso (N x 6,25)	0,43	0,30 – 0,60
Nitrogênio Amínico Livre (FAN, Método Internacional), mg/L	150	130 – 250
Nitrogênio, mg/L	300	250 – 500
Turbidez, FTU	20	10 – 50
Turbidez, Unidades Coleman Nephelos	60	30 – 150

Fonte: Meilgaard (2002).

Kunze (2004) apresentada, na Figura 6, a composição do extrato cervejeiro obtido do malte de cevada.

Segundo o autor entre o 75 e 80 % do malte torna-se solúvel durante o processo de mosturação, e entre 63 e o 68 % desse extrato, são de açúcares fermentáveis. Para um mosto entre 11 e 12 % de extrato total, a parte do extrato que é fermentável é formado por maltose (65%), maltotriose (17,5 %), sacarose (5 %), glicose (9,2 – 11,2 %) e frutose (0,8 – 2,8 %). Segundo o mesmo autor, a outra parte do extrato é geralmente formada por dextrinas limites, proteínas, gomas e minerais.

Figura 6 – Composição do extrato cervejeiro.

Fonte: Kunze (2004).

Conforme Madigan et al. (2010) todas as células necessitam de fonte de carbono para sua nutrição. Após o carbono, o elemento mais abundante nas células é o nitrogênio. Aizemberg (2015) considera que o nitrogênio é um elemento essencial para a levedura sintetizar proteínas, ácidos nucleicos e outros componentes nitrogenados, e está presente no mosto cervejeiro, proveniente da hidrólise das proteínas do malte no processo de mosturação. Briggs (2004) relata que a utilização de adjuntos pode diluir o nível de nitrogênio solúvel, polifenóis e taninos no mosto cervejeiro. Meilgaard (2002) descreve que os adjuntos geralmente conferem pouco ou nenhum nitrogênio ao mosto, resultando na diminuição destas substâncias nutritivas disponíveis no malte.

Conforme Zhao et al., (2016) todos os mostos a base de malte possuem concentrações entre 65 e 100 mg de nitrogênio por cada 100 mL, sendo que destes, cerca de 20% são de proteínas, entre 30 e 40 % de polipeptídios, entre 30 e 40 % de aminoácidos livres (FAA) e 10 % de nucleotídeos e outros compostos nitrogenados. Os autores confirmam que as estirpes de leveduras cervejeiras não assimilam proteínas e cadeias grandes de polipeptídios, e como dificilmente a célula segrega proteases ao meio durante o processo, os compostos nitrogenados utilizados pelas leveduras cervejeiras são de nitrogênio amínico livre (FAN), que podem ser definidos pela soma dos aminoácidos livres, íons de amônio e, numa extensão, di e tri peptídeos.

A quantidade de amino ácidos nos mostos concentrados é ao redor do dobro da quantidade disponível no mosto normal, cuja sua utilização não excede a usual, mas este excesso de aminoácidos se mantém na cerveja depois da fermentação (KUNZE, 1999). Por isso é possível usar relativamente uma quantidade maior de adjunto na preparação de mosto concentrado, valores acima de 50 %, sem exercer efeito significativo no tempo de fermentação. A levedura utiliza os compostos nitrogenados do mosto para sintetizar suas substâncias celulares. Em média a levedura utiliza de 10 a 14 mg de nitrogênio amínico na forma de aminoácidos e pequenos peptídeos por 100 mL de mosto.

Madigan et al., (2010) comentam da importância do balanço de carbono/nitrogênio para os microrganismos. Já Basařová e Čepička (1985) confirmaram que é possível julgar a correta composição do mosto cervejeiro pela relação entre açúcares fermentescíveis e nitrogênio assimilável e encontraram nas cervejas tchecas as seguintes relações ótimas para esta relação:

$$\frac{\text{açúcares fermentáveis}}{\text{Nitrogênio total}} = 70 - 75$$

$$\frac{\text{açúcares fermentáveis}}{\text{Nitrogênio amínico}} = 340 - 350$$

Conforme Stewart (2006) os adjuntos são uma fonte mais barata de extrato para o mosto cervejeiro, mas como limitação pode-se mencionar que não oferece compostos nitrogenados nem possuem poder enzimático.

Quando é utilizado xarope de milho como adjunto na preparação da cerveja, as perspectivas dos cervejeiros, como um dos aspectos mais importantes para o cervejeiro, é o poder de fermentação do mosto que é determinado pela composição dos carboidratos (BRADEE et al., 2002). De acordo com os autores a quantidade

de açúcares fermentescíveis, do xarope de milho utilizado para a obtenção da cerveja, poderia afetar a proporção entre açúcares fermentescíveis e nitrogênio amínico do mosto. Quando são utilizados adjuntos que aportam grandes porcentagens de fermentescíveis ao mosto e em grandes proporções, origina-se um acentuado desvio da composição clássica do mosto, ocasionando efeitos negativos por causa do incremento desproporcional dos açúcares fermentescíveis e a diminuição sensível do nitrogênio assimilável pela levedura. Martínez (2014) comprovou que a concentração de nitrogênio amínico livre (FAN) é fundamental na fermentação de mostos concentrados. Foram realizados ensaios com diferentes proporções de xarope de milho como adjunto de malte, e ficou demonstrado que quanto maior a porcentagem de adjunto utilizada, menor foi a concentração de FAN e maior o tempo de fermentação.

Segundo Nogueira et al., (2009) a cana-de-açúcar é uma planta composta, em média, de 65 a 75 % de água, mas seu principal componente é a sacarose, que corresponde de 70 a 91 % das substâncias sólidas solúveis. Fagundes (2010) confirma que o melado é obtido pela concentração de caldo de cana-de-açúcar e em experiências desenvolvidas por ela demonstrou que a composição dele tem grandes quantidades de sacarose e glicose. A autora acredita que a grande quantidade de glicose, no melado, é proveniente da adição de ácido pelos produtores para hidrolisar a sacarose e assim evitar futura cristalização deste açúcar.

Segundo Carrillo (2009) quando se utiliza açúcar refinado como adjunto é incrementada a formação de etanol, quando comparada com cerveja feita somente com o cereal. Isso conforme o autor se deve ao fato de que a sacarose fermenta 100 %, enquanto o extrato de malte fermenta entre 60 e 71 %. Outro aspecto negativo de quando se utiliza sacarose como adjunto, em grandes quantidades, é a diminuição do nitrogênio assimilável pela levedura trazendo possíveis problemas na etapa de fermentação.

2.5.3 Suplementação do mosto

Zhao et al., (2013) confirmam que o nitrogênio amínico livre é um composto indispensável na nutrição da levedura cervejeira. Os autores desenvolveram uma

pesquisa onde realizaram experimentos com três proteases comerciais (Neutrase, Flavorzyme e Protamex) que foram utilizadas no início da etapa de mosturação e monitoraram seus efeitos na diluição de aminoácidos e a capacidade de fermentação de uma levedura *Lager* em mostos com diferentes concentrações (12 e 20 °P). Os autores reportaram que os mostos suplementados com proteases obtiveram maiores concentrações de FAN e rendimentos de extrato que do que aquelas obtidas no mosto padrão. Além disso, o mosto preparado com as enzimas favoreceu o processo de fermentação, quanto a fermentabilidade, a formação de etanol e a obtenção de compostos voláteis que foram superiores e melhoraram o sabor.

Carrillo e Lopez (1996) estudaram o efeito da adição da enzima papaína, durante a mosturação do malte, com o objetivo de avaliar a concentração de FAN no mosto. Os autores utilizaram mostos com concentração de 10 °P e contendo 50 % de sacarose, como adjunto, e obtiveram uma cerveja com boa qualidade sensorial e boa formação de espuma.

Procopio, Sprung e Becker (2015) pesquisaram o efeito da adição de aminoácidos (prolina, leucina, cisteína, valina, glutamina e isoleucina) em meio de cultura sintético, com o objetivo de avaliar a geração de compostos aromáticos.

Para fermentar mostos super concentrados é importante a presença de aminoácidos no meio, para uma boa nutrição da levedura. Nenhuma fermentação acontece sem crescimento da biomassa de levedura e o microrganismo, geralmente, não cresce na ausência de material nitrogenado assimilável (CARRILLO; CARRILLO; MARTÍNEZ, 2011; LEWIS; BAMFOSTH, 2006).

Para fermentar mostos super concentrados são necessárias modificações, fundamentalmente no processo de mosturação, de tal forma a proporcionar a liberação dos nutrientes necessários para o crescimento do fermento (INGLEDEW; KOLOTHMANNIL; THOMAS, 1990). Segundo Meilgaard (2002) a nutrição da levedura é afetada quando a concentração de FAN do mosto é menor que 150 ppm. Há informações de fermentações que não tiveram problemas, quando as concentrações de FAN foi de 120 ppm, mas este valor seria um teor limite. Quando são utilizados adjuntos em grandes proporções, a concentração de FAN fica menor e podem ocorrer problemas na nutrição da levedura, por isso, uma opção poderia ser de ter que suplementar o mosto para evitar esses inconvenientes.

A deficiência de nutrientes é um fator limitante da produção de cerveja concentrada (ALMEIDA e SILVA, 2005). Conforme o autor, estirpes de leveduras cervejeiras com uma boa suplementação nutricional podem produzir até 16,2 % (v/v) de etanol em fermentações descontínuas a 14 °C utilizando mostos com 31 °P. Para que a levedura cervejeira produza esse teor de etanol em tempos menores de fermentação, o mosto deve conter dois tipos de suplementos nutricionais: 1 % de extrato de levedura como fonte de nitrogênio e uma mistura de ergosterol e ácido graxo insaturado, complementados com uma fração de ácido oleico do Tween 80.

Usando técnicas de suplementação nutricional no mosto cervejeiro, Casey, Magnus e Ingledew (1983), comentam que é possível produzir cervejas com 16,2 % (v/v) de etanol, sem perda de viabilidade da levedura, e afirmam que a concentração de FAN é o fator principal para uma boa nutrição da levedura.

Almeida e Silva (2005) comenta o caso de fermentações conduzidas na temperatura de 20 °C, quando utilizou levedura tipo *Lager*, em um meio quimicamente definido com concentração original de 35 °P, e a adição de nutrientes tais como triptona, extrato de levedura e uma mistura de bases de purinas e pirimidinas. Segundo o autor, houve um aumento pela demanda de glicose e para a produção de etanol, mas não foi possível manter altos valores de viabilidade celular.

Trabalhos de pesquisa desenvolvidos por Carrillo, Carrillo e Martínez (2011), referiram a adição de 3,4 Unidades Anson (U.A.) de papaína para cada 100 g de malte, no processo de mosturação. Os autores reportaram que a concentração de FAN foi suficiente para manter boa velocidade de fermentação, e a cerveja apresentou concentração de etanol de 14,33 % (v/v), com máxima de eficiência no aproveitamento dos açúcares fermentescíveis.

Martínez (2014) também utilizou papaína, na mesma proporção e nas mesmas etapas daquelas utilizadas no processo das fontes anteriores, e foram obtidos bons resultados. O autor realizou pesquisas sobre a produção de cervejas super concentradas, utilizando xarope de milho na proporção de 30 e 45 % como adjunto de malte e obteve boas concentrações do FAN. Para isso, o autor iniciou as fermentações com mosto puro de malte e em todas as experiências a concentração de FAN sempre esteve acima dos 490 mg/L de mosto com 16 °P.

2.5.4 Temperatura de fermentação

A fermentação é um dos processos mais importantes e complexos nas operações de uma cervejaria (KNUDSEN, 2002). O autor comenta sobre a importância de diferentes parâmetros tais como o tempo, a pressão e a temperatura do processo.

Conforme Boulton (2006) a temperatura de fermentação é um parâmetro importante para obter um produto de qualidade. O autor confirma que a indústria possui reatores que conseguem controlar a temperatura em uma faixa de $\pm 0,5$ °C, o que favorece o padrão e qualidade do processo.

Eßlinger (2009) comenta que são essenciais o padrão da temperatura da fermentação e da maturação da cerveja. A temperatura tem grande efeito sobre os seguintes fatores:

- a) na influência da velocidade e do tempo de fermentação;
- b) no perfil das concentrações de subprodutos da fermentação;
- c) no perfil da pressão de CO₂ na parte superior do fermentador.

Conforme Knudsen (2002) as fermentações, quando desenvolvidas, com leveduras *Lager* a temperatura do processo pode variar entre os 8 e os 14 °C. Já quando utilizadas leveduras *Alc* as temperaturas variam entre os 15 e os 25 °C.

A influência da temperatura nas fermentações de mostos com alta concentração inicial de substrato está relacionada com a tolerância ao etanol. De acordo com Almeida e Silva (2005), experiências desenvolvidas com mostos com alta concentração de extrato (27 °P) obtidos com a adição de xarope de milho, suplementados com nutrientes e fermentados a 14, 20, 25 e 30 °C, mostraram que a velocidade de fermentação acompanhou o aumento da temperatura. Por outro lado, a viabilidade celular após o quinto dia, apresentou resultados extremamente baixos nos mostos fermentados em altas temperaturas, apesar dos teores de etanol terem sido similares no final da fermentação. O autor confirma que o efeito inibitório do etanol em altas temperaturas tem sido atribuída ao aumento no acúmulo de etanol intracelular quando a fermentação é conduzida em temperaturas mais elevadas.

Carrillo, Carrillo e Martínez (2011) fermentaram mostos super concentrados a uma temperatura de 10°C, utilizando sacarose e testando diferentes proporções

malte/adjunto, e obtiveram concentrações de 13,74; 14,36; 14,47; 14,54; 14,61 % (v/v) de etanol nas cervejas.

Martínez (2014) fermentou mostos a temperatura de 10 °C, utilizando xarope de milho como adjunto nas proporções de 30 e 45 %, e conseguiu concentrações alcoólicas de 9,36 e 11,52 % (v/v) nas cervejas obtidas.

2.5.5 Suplementação de oxigênio ao mosto

Verbelen et al., (2009) confirmam que o oxigênio dissolvido, no início do processo de fermentação, ajuda em diferentes etapas do metabolismo das leveduras. Um dos principais papéis do oxigênio é promover a biossíntese de ácidos graxos insaturados e ergosterol, que são necessários para o adequado crescimento anaeróbico. Normalmente após a fermentação, se colheita e armazena a levedura, para reutilização em outras fermentações subseqüentes. Como as células de levedura não contêm a concentração adequada de esteróis e ácidos graxos insaturados, elas sofrem alterações na estrutura da sua membrana e como consequência, muitos processos ligados à membrana não funcionam de maneira ideal. Portanto, as células somente retomam o crescimento quando os níveis apropriados desses compostos de essenciais para a membrana são sintetizados, de daí a necessidade da oxigenação.

O oxigênio absorvido pelas células de levedura é usado em outros processos celulares, como para o desenvolvimento mitocondrial e em outras vias alternativas que não são ligadas à cadeia respiratória e nem à síntese de esteróis e de ácidos graxos insaturados. Ainda segundo os autores a oxigenação do mosto deve ser otimizada, porque muito oxigênio pode causar degeneração das leveduras, devido ao efeito tóxico deste em algumas espécies. Entretanto, uma sub aeração do mosto pode levar a um menor crescimento da levedura, causar baixa viabilidade celular, e síntese de lipídios menos favoráveis, provocando fermentações demoradas e mudanças no sabor da cerveja.

Segundo Eßlinger (2009) além da concentração de células de levedura, uma fermentação satisfatória depende do fornecimento eficiente de oxigênio às células. Isto é feito por arejamento do mosto com ar estéril ou, excepcionalmente, com oxigênio. Com uma distribuição intensiva de pequenas bolhas de ar, o que pode

ser feito em vários equipamentos como pedras porosas, tubos venturi, bocais especiais ou misturadores estáticos, pode-se obter uma boa concentração de oxigênio no mosto. O autor confirma que a concentração de 8 – 10 mg de O₂ por litro de mosto é considerada uma proporção ótima.

Conforme Almeida e Silva (2005) o valor de oxigenação do mosto tem mostrado importante papel no desempenho da levedura, especialmente em mostos com altas concentrações. A reutilização da levedura em condições com deficiência de oxigênio acarreta efeitos nocivos no desempenho da fermentação. Quando a levedura cervejeira é sucessivamente reinoculada em mostos oxigenados com concentração de 20 °P, esses efeitos nocivos são minimizados.

Conforme Verbelen et al., (2009) a utilização de mostos concentrados e/ou maiores taxas de inoculação resulta em uma menor disponibilidade de oxigênio, no mosto, para as leveduras. Em contraste, a aeração excessiva do mosto pode resultar em formação excessiva de biomassa e produção reduzida de etanol, resultando em fermentações inconsistentes.

2.5.6 Atividade de água

A água é um requerimento essencial para a vida. De acordo com Deák (2008) a água deve estar de forma fluida e também como solvente geral de nutrientes e a disponibilidade dela na microbiologia é chamada de atividade de água. Segundo o autor este fator é um dos mais fundamentais aspectos que afeta a cultura da levedura e a maioria das estirpes necessitam para crescer no mínimo uma atividade de água de 0,9 a 0,95, embora algumas espécies consigam se desenvolver em baixas atividades de água, de até 0,62. O autor destaca ainda que a baixa atividade de água no meio ocasiona problemas de pressão osmótica o que afeta o crescimento e a viabilidade da levedura. A Tabela 17 apresenta a viabilidade da espécie *Saccharomyces cerevisiae* em relação ao estresse osmótico quando é cultivada em glicerol e polietilenoglicol 600.

Tabela 17 – Viabilidade da espécie *Saccharomyces cerevisiae* quando cultivada em dois meios de cultura diferentes.

Atividade de água	Viabilidade celular	
	Glicerol	Polietilenoglicol 600
0,9	92	59
0,8	65	58
0,7	55	40
0,6	20	28
0,5	10	0

Fonte: Deák (2008).

2.5.7 Concentração celular inicial

Knudsen (2002) relata que a concentração celular inicial em mostos cervejeiros pelo geral é de 1×10^7 cel/mL de mosto, embora este fator dependa de diferentes parâmetros como a concentração do mosto, a temperatura do processo e o coeficiente de fermentação desejado. Para o autor quando se aumenta a concentração original do mosto, deve aumentar também a concentração celular no meio.

A concentração do inóculo em fermentações com altas concentrações de açúcares (25 °P), obtidas pela adição de xarope de milho, também pode acarretar algumas alterações na fermentação. Geralmente, com o aumento da concentração do inóculo, as fermentações ocorrem mais rapidamente; por exemplo, quando se eleva a concentração de células de $1,5 \times 10^7$ para $3,5 \times 10^7$ cel/mL, o tempo de atenuação limite do mosto diminuiu. O aumento da concentração de inóculo para acelerar a velocidade da fermentação pode ser benéfico, principalmente quando não é permitida pela lei a suplementação do mosto ou o uso de nutrientes estimulantes para o crescimento da levedura (ALMEIDA e SILVA, 2005).

Em pesquisas com cerveja super concentrada realizadas por Carrillo, Carrillo e Martínez (2011) onde calcularam a relação de açúcares fermentescíveis/inóculo, eles utilizaram maiores concentrações de inóculo quando se trabalhou com maior concentração de açúcares fermentescíveis. Martínez (2014) utilizou também a mesma metodologia proposta pelos autores anteriores e obteve também bons resultados na elaboração de cerveja super concentrada utilizando xarope de milho como adjunto.

2.6 Utilização de enzimas exógenas

Homaie et al., (2013) acreditam que a relação entre humanos e enzimas evoluiu com o tempo. Mesmo durante os tempos históricos, onde não havia o conceito de enzimas, o antigo povo egípcio produzia cerveja e vinho por fermentação, processo no qual as enzimas exercem uma função fundamental. Após vários milhares de anos, os estudos enzimáticos progrediram significativamente. As enzimas são catalisadores naturais e são onipresentes, em plantas, animais e microrganismos, onde catalisam processos que são vitais para os organismos vivos. O crescente conhecimento e aprimoramento da técnica sobre extração e purificação de proteínas leva à produção de muitas enzimas com alto grau de pureza, e a identificar as que podem ser utilizadas para aplicações em pesquisa e biotecnologia.

Nelson e Cox (2011) consideram que, exceto alguns compostos orgânicos representados por um pequeno grupo de moléculas de RNA catalíticas, todas as enzimas são proteínas. Segundo a fonte a vida depende das enzimas, que são catalisadores poderosos e específicos e praticamente todas as reações bioquímicas são catalisadas por elas.

As enzimas são muitas vezes consideradas prejudiciais pela indústria de processamento de alimentos, e precisam ser destruídas geralmente por tratamento térmico (WHITAKER, 2009). Conforme o autor, o efeito negativo das enzimas se baseiam nas alterações indesejáveis da textura, da cor, do sabor, do aroma e das características nutricionais que podem ocorrer na colheita e armazenamento de alguns alimentos. No entanto, a utilização de enzimas na produção de cerveja, na elaboração do queijo e no amaciamento da carne tem sido empregada há muitos anos.

Singh et al., (2006) confirmaram que as enzimas microbianas ganharam reconhecimento global por seus diferentes usos em vários setores da indústria, por exemplo, alimentos, agricultura, produtos químicos, medicina e energia. Utilizar enzimas em processos industriais é interessante, visto que, estas possuem características não tóxicas e não prejudicam o meio ambiente, e ao mesmo tempo oferecem vantagens como a diminuição no tempo dos processos, menor consumo de energia e menor custo de produção. Ainda, conforme os autores, o mercado

global de enzimas industriais foi estimado em US \$ 4,2 bilhões em 2014 e deve crescer a uma taxa anual de aproximadamente 7% no período de 2015 a 2020, atingindo quase US \$ 6,2 bilhões.

O uso de enzimas nos processos industriais pode evitar o emprego de altas temperaturas, solventes orgânicos e situações de pH extremos, enquanto que, ao mesmo tempo proporcionam o aumento da especificidade da reação, a pureza do produto e reduz o impacto ambiental (CHERRY; FIDANTSEF, 2003). Os autores confirmam que a utilização de enzimas industriais é um dos maiores impactos da biotecnologia nos últimos anos, com 50 aplicações em mais de 500 produtos, desde a fabricação de detergentes até a elaboração de cerveja são usadas enzimas obtidas em escala industrial produzidas por microrganismos. Ainda segundo os autores, o mercado de enzima industrial mundial estimado em 2000, foi avaliado em cerca de 1,5 bilhões de dólares e tradicionalmente é dividido em três segmentos:

- a) O maior deles, alcança o 65 % das vendas, e corresponde ao de enzimas técnicas, onde incluem enzimas utilizadas nas indústrias do detergente, do amido, de produtos têxteis, do couro, do papel e da celulose, e também do setor de cuidados pessoais;
- b) as enzimas alimentares, que é o segundo maior segmento com 25 % do mercado, onde se inclui as enzimas empregadas nos produtos lácteos, fabricação de cerveja, vinho e suco, gorduras e óleos, e as indústrias de panificação;
- c) e por último, com 10 % do mercado, as enzimas para a alimentação animal, que compreende as enzimas contidas em rações para animais.

2.6.1 Papaína

Jones e Ingledew (1994a) realizaram um estudo com enzimas proteases na obtenção de mostos concentrados. Os autores utilizaram enzimas com a finalidade de obter maiores concentrações de FAN e assim favorecer o processo de fermentação. Zhao et al., (2016) utilizaram enzimas proteolíticas (Neutrase, Flavorzyme e Protamex), na elaboração de mostos com 12 e 20 °P, e obtiveram aumento do rendimento e da concentração de FAN, em sua pesquisa.

A papaína é uma enzima alcaloide com ação proteolítica obtida do látex do mamão (*Carica papaya*). A enzima possui amplo espectro de especificidade, para os peptídeos, as amidas, os ésteres e os tioésteres, que são todos susceptíveis à hidrólise catalítica da papaína (WIKIPÉDIA, 2014).

Conforme Homaei et al., (2010) a papaína é uma enzima que exhibe ampla atividade proteolítica e é de alto interesse de pesquisa, tendo também uma variedade de aplicações industriais. É usada na indústria alimentícia, para amaciar carne, para produzir hidrolisado de proteína, para clarificar sucos e cerveja, para a produção de queijo na indústria de laticínios, na indústria de panificação e para extrair sabores e cores de diferentes plantas. A papaína também pode ser usada para aumentar o teor de proteína nos produtos, na indústria de forragem e na extração de proteínas de plantas e animal para utilizá-las em produtos relacionados ao bem estar e à saúde.

Pesquisadores relatam o uso da papaína na produção de cerveja. Depois de pronta, a cerveja poderá formar uma névoa, originada por proteínas, causando turvação no produto, que diminui o seu valor comercial. Os autores confirmam que para evitar esse efeito não desejado, são utilizadas proteases como a papaína e desenvolveram um processo para aumentar a estabilidade da cerveja (USPO, 1970).

Pesquisas desenvolvidas por Carrillo e López (1996) estudaram a utilização de papaína na mosturação de malte para elaborar cerveja. A cerveja produzida utilizou uma proporção de 50 % de malte e 50 % de açúcar refinado de cana. Os autores conseguiram duplicar a concentração de FAN no mosto cervejeiro e a cerveja obtida apresentou boas características sensoriais.

Autores avaliaram um processo de elaboração de cerveja super concentrada utilizando xarope de sacarose como adjunto e com a adição de papaína na mosturação (CARRILLO; CARRILLO; MARTÍNEZ, 2011). Segundo os autores o processo incrementou a hidrólise das proteínas do malte e compensou a diluição dos compostos nitrogenados provocado pela adição da sacarose.

Martínez (2014) obteve elevadas concentrações de FAN quando utilizou papaína na proporção de 34 UA/Kg de malte. A pesquisa em questão foi desenvolvida utilizando xarope de milho como adjunto de malte.

2.6.2 Termamyl

Setores da indústria, por exemplo, alimentos, agricultura, produtos químicos, medicina e energia, utilizam enzimas microbianas em seus processos (SINGH et al., 2006). Os autores confirmam que as amilases microbianas podem ser utilizadas para hidrolisar o amido em açúcares, antes da fermentação, na elaboração das bebidas alcoólicas destiladas, e para a hidrólise de cevada não malteada e outros adjuntos amiláceos facilitando a redução dos custos de produção da cerveja.

As amilases são enzimas que catalisam a hidrólise de ligações 1,4 – alfa-glicosídicas internas do amido, em produtos de baixo peso molecular, tais como unidades de glicose, maltose e maltotriose (SOUZA; MAGALHÃES, 2010). As autoras conferem que as amilases estão entre as enzimas mais produzidas e são de grande importância para a biotecnologia, representando aproximadamente o 25 % do mercado mundial. As amilases de microrganismos têm um amplo espectro de aplicações industriais, pois são mais estáveis do que aquelas obtidas de vegetais e de animais. A principal vantagem para o uso de microrganismos para a produção de amilases é a capacidade econômica de produção em massa e o fato de que os microrganismos são fáceis de manipular para obter enzimas com as características desejadas. Ainda segundo a fonte, as amilases podem ser obtidas tanto de fungos, leveduras e bactérias, mas as enzimas de origem fúngicas e bacterianas são as que têm dominado o uso e aplicações nos setores industriais.

A α -amilase pode ser produzida por diferentes espécies de microrganismos, mas para aplicações comerciais, são aquelas obtidas principalmente pelo cultivo do gênero *Bacillus* (SOUZA; MAGALHÃES, 2010). As α -amilases produzidas a partir de *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophilus* e *Bacillus amyloliquefaciens* podem ser aplicadas em vários processos industriais, como nas indústrias de alimentos, fermentação, têxtil e papel. Conforme as autoras, a termoestabilidade é uma característica desejada na maioria das enzimas industriais, por isso, as enzimas termoestáveis isoladas de organismos termófilos, são utilizadas em uma série de aplicações comerciais devido à sua estabilidade. A liquefação e sacarificação enzimática do amido, realizadas em altas temperaturas (100 – 110 °C) por enzimas amilolíticas termoestáveis, têm sido pesquisada para melhorar os processos industriais de degradação do amido, sendo que, existe

grande interesse para a produção de produtos valiosos como glicose, dextrose cristalina, xarope de dextrose, maltose e maltodextrina. *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus amyloliquefaciens* são microrganismos bons produtores de α -amilases termoestáveis, e são os mais utilizados para a produção comercial destas enzimas.

Diferentes estirpes de *Bacillus licheniformis*, não patogênicas, podem fornecer enzima α -amilase termoestável procedente de processos fermentativos (FAO, 2004). A fonte confirma que estas enzimas são adequadas para hidrólise de amido conduzida em temperaturas elevadas, por exemplo, para a liquefação de amido para a produção de adoçantes, assim como na produção de bebidas alcoólicas dentre elas a cerveja. A enzima é subsequentemente purificada, concentrada, e formulada às características desejadas pelo fabricante.

Segundo Souza e Magalhães (2010) a enzima α -amilase pertence a uma família de endoamilases que catalisa a hidrólise inicial do amido em pequenos oligossacarídeos através da quebra das ligações glicosídicas α -D-(1-4). Nem a glicose nem as ligações α -1,6 podem ser quebradas pela α -amilase, e a hidrólise do amido pela ação desta enzima, gera como produtos: maltose, maltotriose e oligossacarídeos ramificados de 6 a 8 unidades de glicose, que são formadas tanto por ligações α -1,4 e α -1,6. Ainda, conforme as autoras, outras enzimas amilolíticas participam do processo de degradação do amido, mas a contribuição da α -amilase é a mais importante para o início desse processo.

A Termamyl 120-L é uma endoamilase que hidrolisa ligações 1,4 – alfa–glicosídicas, em dextrinas solúveis e oligossacarídeos, obtida por fermentação com uma estirpe geneticamente modificada de *Bacillus licheniformis* (SIGMA, 2014). A fonte ressalta as condições desta enzima poder ser utilizada em temperaturas elevadas, ampla faixa de pH e baixa concentração de cálcio no meio. Na indústria de amido, a Termamyl é usada para liquefação contínua de amido em equipamentos que operam em temperaturas de até 105 – 110 °C, demonstrando sua capacidade para agir em temperaturas consideradas altas para a ação enzimática. Na indústria do etanol de cereais, esta enzima é utilizada para a hidrólise do amido em um meio com baixa concentração de cálcio, o que evita depois, possível problema de incrustação na coluna de destilação. Na elaboração de cerveja, a Termamyl é usada para liquefação de adjuntos. Devido à estabilidade

ao calor extremo da enzima, o programa de mosturação pode ser simplificado, com a possibilidade de aumentar a proporção de adjuntos no processo.

Balcerek et al. (2016) pesquisaram o uso da enzima Termamyl SC para a hidrólise de amido, na elaboração de mostos para a obtenção de destilados. Os autores estudaram o processo de mosturação de combinações com 70/30 e 50/50 centeio não malteado/cereal malteado.

Bajomo e Young (1992) na preparação de mostos para a elaboração de cerveja utilizaram uma enzima α -amilase termoestável. Os autores destacaram que no processo foi utilizado sorgo como adjunto, que foi gelatinizado a 100°C durante 30-40 minutos na presença de α -amilase termoestável.

Chen (1993) trabalhou com mostos de 12 °P para a obtenção de cervejas, utilizando malte de segunda qualidade e 40 % de arroz como adjunto. O autor utilizou Termamyl na mosturação obtendo um grau real de fermentação de até 72,1 % e diminuiu o consumo específico de cereais na produção de cerveja.

Martínez (2014) elaborou cerveja super concentrada utilizando xarope de milho como adjunto de malte. O autor reportou o uso da enzima Termamyl 120-L, na proporção de 0,5 mL/kg de malte, a que foi adicionada no processo de mosturação e facilitou a filtração do mosto na etapa seguinte do processo cervejeiro.

2.7 Processos para a produção de cervejas concentradas

No mundo é comum fermentar mostos com concentrações elevadas de extrato, conseqüentemente obter cervejas com alto teor alcoólico e que depois devem ser diluídas até a concentração original adequada para a venda, prática que incrementa a capacidade de produção das plantas produtoras (Palmer e Rennie, 1974).

O objetivo de elaborar cervejas concentradas é ampliar a utilização dos reatores de fermentação e dos tanques de maturação (HAWKING, 1975). Em alguns casos também se amplia a utilização dos filtros de cerveja e a sala de brassagem. Esta tecnologia aumenta a produtividade das cervejarias e reduz os custos de operação, sendo importante para isto, diluir a cerveja concentrada, no ponto mais tardio possível.

Jones e Ingledew (1994b) definem como mostos super concentrados, aqueles que tem concentrações de extrato original iguais ou superiores aos 18 °P. Os pesquisadores estudaram uma técnica para controlar com precisão a concentração de oxigênio dissolvido, nas fermentações em escalas de bancada e piloto, a qual foi aplicada para facilitar o processo de fermentação em reatores industriais. Foi desenvolvida uma estratégia de fornecimento de oxigênio em fermentações descontínuas em um mosto com 22 °P, e a introdução de 25 ppm de oxigênio dissolvido 12 h após a inoculação, e isto melhorou significativamente a fermentação do que naquelas onde o fornecimento de oxigênio era feito imediatamente antes da inoculação, diminuindo 33 % no tempo de atenuação em comparação com os resultados do padrão.

Shaus (1971) fez referência em algumas cervejas elaboradas a partir de mostos de dupla concentração de 22 a 28 °Brix destacando os benefícios do ponto de vista energético deste processo. Por exemplo, o sistema de enriquecimento do mosto foi empregando na tina de mosturação usando água de lavagem do bagaço de malte do cozimento anterior.

Uma tecnologia para obter cerveja concentrada denominada Phillips Fractional Crystallization Process foi desenvolvida pelo consórcio Phillips Petroleum Co, que propuseram um processo de cristalização fracionada aplicando frio na cerveja para a diminuição do conteúdo de água (DAVIES; DICKERSSON; SMITH, 1987).

Jones e Ingledew (1994b) pesquisaram fermentações de mostos com elevada concentração em diferentes temperaturas. Os autores estudaram a adição de uréia e consideram que 27 °C é a temperatura ótima para a fermentação de mostos super concentrados.

Segundo Gonzáles et al., (2016) no processo de fermentação a levedura é submetida ao estresse ocasionado pela pressão osmótica e pela elevada concentração de etanol. Akada (2002) comenta sobre modificações genéticas desenvolvidas em leveduras e revela da possibilidade do uso de estes microrganismos na elaboração de cerveja.

Raji, Onilude e Olorode (2014) elaboraram cervejas a partir de mostos super concentrados, testando uma variedade de sorgo vermelho e outra de sorgo branco. No estudo os autores maltearam o sorgo previamente, e depois elaboraram mostos com 30 % (m/v) de extrato original, utilizando milho como adjunto na proporção de

1:4, milho/malte de sorgo. Os mostos com o sogo vermelho e com o sorgo branco tiveram níveis finais de etanol de 11,42 e 10,50 % (v/v), respectivamente.

A fermentação de mostos concentrados apresenta questões críticas, tais como fatores adversos de estresse (pressão osmótica e inibição pelo etanol) e altas concentrações de subprodutos metabólicos que são difíceis de evitar com um único método de produção (TAO et al., 2012). Os autores desenvolveram uma pesquisa em que modificaram geneticamente leveduras *Saccharomyces cerevisiae* para melhorar o desempenho da produção de bioetanol na fermentação de mostos super concentrados. Este trabalho foi realizado em duas etapas: na primeira o gene que codifica a glicerol 3-fosfato desidrogenase foi eliminado, resultando em um mutante com um rendimento de glicerol inferior e baixa produtividade de etanol. Na segunda etapa, foram realizados experimentos com três genes de estirpes com alta tolerância à concentração de etanol, e avaliados seus desempenhos na fermentação em VHG, e foi escolhido o microrganismo com melhor desempenho.

Em células vivas, a concentração de ATP é mantida muito acima do equilíbrio em relação às concentrações de ADP, AMP e fosfato inorgânico, e todos estes compostos são equilibrados pelo processo de obtenção de ATP e a enzima adenosina quinase (GUIMARÃES; LONDESBOROUGH, 2007). A energia livre disponível a partir da hidrólise do ATP é usada para conduzir muitas reações cinéticas e outros processos que exigem energia. A relação entre as concentrações de ATP, ADP e AMP é termodinamicamente mais importante que a concentração absoluta de ATP e é frequentemente expressa como a carga energética da adenosina (CE), e conforme a fonte seu valor se movimenta entre 0 e 1. Os autores fermentaram mostos com 15 e 25 °P de extrato original, com duas estirpes de leveduras cervejeiras *Lager*, e mediram as concentrações de ATP, ADP e AMP intra e extracelular. Pouco ATP e ADP extracelular, mas quantidades substanciais de AMP extracelular foram encontrados. AMP extracelular aumentou durante a fermentação e atingiu valores mais altos (3µM) em 25 °P, e com 15 °P foi alcançado apenas 1 µM. O ATP foi o nucleotídeo de adenina intracelular dominante e a CE permaneceu alta (>0,8) até que as concentrações de açúcar foram baixas e as taxas específicas de produção de etanol foram <5 % dos valores máximos no início da fermentação. Embora foram encontradas altas concentrações de etanol (> 85 g/L) alcançadas nas fermentações dos mostos super concentrados, não diminuíram

a CE abaixo dos valores que permitem a síntese de novas proteínas, com as leveduras estudadas.

Pham, Doan e Le (2008) avaliaram um processo de elaboração de cerveja super concentrada, em sistema contínuo com levedura *S.cerevisiae* imobilizada em gel de alginato de cálcio. As concentrações médias iniciais dos mostos foram ajustadas a 28 °Brix e 41 °Brix. O mosto original foi composto de 55 % malte e continha 45 % de xarope de maltose como adjunto, e foi estudada a suplementação do mosto com Tween 80 e ergosterol. Os resultados indicaram que a adição de 0,3 % (v/v) de Tween 80 e 24 ppm de ergosterol ao mosto, melhorou o desempenho fermentativo da levedura imobilizada. Sob estas condições, o tempo de fermentação primária diminuiu em 24 h e a concentração de etanol foi semelhante, em comparação com os resultados obtidos com a cultura contínua e sem suplementação.

Carrillo, Carrillo e Martínez (2011) desenvolveram um processo de elaboração de cerveja super concentrada com sacarose como adjunto. A Figura 7 apresenta o gráfico empregado para a mosturação, para a obtenção de um mosto puro de malte com uma concentração de 16 °P. Quando a temperatura de mosturação atingiu 63 °C, foi adicionada a enzima papaína em quantidade correspondente a 3,4 U.A. para cada 100 g de malte, com o objetivo de aumentar a concentração de amino ácidos livres, e assim melhorar a nutrição da levedura no processo de fermentação.

Os autores estudaram cinco combinações diferentes, da proporção de malte/adjunto, visando a obter cervejas com 13 %; 13,5 %; 14 %; 14,5 % e 15 % de etanol (v/v). Os experimentos foram conduzidos com uma levedura *S. cerevisiae*, cujas características eram conhecidas por Abreu et al., (2004), por sua tolerância e pela formação de etanol; eficiência fermentativa; capacidade de floculação, clarificação e sedimentação. A metodologia seguida por Carrillo, Carrillo e Martínez (2011) foi aplicada em um processo descontínuo alimentado, onde a fermentação iniciou com um mosto de puro malte, e perto do final da fase de crescimento da levedura, foi adicionado xarope de açúcar refinado de cana com 60 °Brix. Das cinco proporções de adjunto, experimentadas, a segunda foi a mais eficiente, fornecendo uma cerveja com concentração alcoólica de 14,33 % (v/v).

Figura 7 – Perfil de mosturação utilizado no processo de cerveja super concentrada.

Fonte: Carrillo, Carrillo e Martínez (2011).

Martínez (2014) estudou a obtenção de cerveja super concentrada, a partir de mostos com concentrações originais em redor de 22 e 26 °P. O autor utilizou xarope de milho como adjunto de malte e estudou as proporções de 70/30, 55/45 e 20/80 de malte/adjunto, respectivamente. A Figura 8 apresenta o método de mosturação utilizado pelo autor.

Figura 8 – Perfil de mosturação utilizado para obter os mostos experimentais.

Fonte: Martínez (2014).

Pode-se observar que o método de mosturação empregado por Martinez (2014) foi uma adaptação do proposto por Carrillo, Carrillo e Martínez (2011), que foi apresentado na Figura 3. Martínez (2014) acrescentou uma fase, no processo de mosturação, na que o mosto é mantido a 95 °C por 15 min. e aos 94 °C adicionou 0,5 mL de enzima Termamyl 120-L para cada quilograma de malte utilizado. O autor descreveu a facilidade de filtrar o mosto na temperatura de 94 °C (menor viscosidade), e comprovou a facilidade na sacarificação do amido, utilizando Termamyl, na temperatura utilizada. A fonte indica que no processo pesquisado teve bons resultados nas proporções 70/30 e 55/45 de malte adjunto, obtendo concentrações alcoólicas de 9,36 e 11,52 % (v/v), respectivamente. A proporção 20/80 não foi favorável e a pesquisa demonstrou que a concentração de FAN no mosto, pode ter sido a causa do resultado, que ocasionou um dês-balanço da concentração de carbono/nitrogênio.

2.8 Desenho de experimentos

Conforme Montgomery (2004) pesquisadores de todas as áreas de conhecimento desenvolvem suas experiências para descobrir as características de um processo ou de um sistema particular. O autor define experiência como uma prova ou uma série de provas nas quais se fazem modificações deliberadas nas variáveis de entrada de um processo ou de um sistema para observar e identificar as razões das mudanças que pudessem ser observadas nas variáveis respostas. Na engenharia, a experimentação desempenha um papel fundamental no desenho de novos produtos, no desenvolvimento de processo de manufatura e na melhora dos processos. Ainda segundo o autor desenhar as experiências poupa tempo e recurso nas pesquisas a serem desenvolvidas.

Em muitas pesquisas poderá haver interferência nos resultados quando se estuda dois ou mais fatores. Em geral, os desenhos fatoriais são os mais indicados para estas experiências (MONTGOMERY, 2004). De acordo com o autor, entende-se por planejamento fatorial a situação em cada ensaio completo do experimento pesquisado, se avalia todas as combinações possíveis dos níveis dos fatores em estudo. O efeito desta mudança de nível, poderá provocar ou não uma alteração

na resposta produzida, e com frequência, o que é chamado de efeito principal. Portanto o fator em análise pode ser estudado em diferentes níveis, e quando são dois os níveis, estes são identificados como baixo (-) e alto (+).

A metodologia de superfície de resposta (MSR) consiste em uma seleção de técnicas estatísticas e de matemáticas útil para o desenvolvimento, a melhoria e a otimização de processos (COMPARINI et al., 2012). Esta metodologia também tem aplicações importantes em planejamentos, desenvolvimento e formulação de novos produtos, e melhoria dos projetos e produtos existentes. A mais extensiva aplicação do MSR é na área industrial, particularmente em situações em que entram várias variáveis que potencialmente influenciam em alguma medida de desempenho ou na qualidade característica de um produto ou processo.

2.9 Avaliação sensorial

Os seres humanos têm sensibilidades diferentes e podem experimentar respostas distintas para estímulos a compostos que oferecem sabores diferentes (PARKER, 2018). A análise sensorial é uma ferramenta em que as pessoas medem ou sentem as características sensoriais de um produto, daí a importância de entender a base científica que existe por trás da disciplina, a fim de garantir que os resultados sejam seguros, válidos e confiáveis, a fim de tomar as decisões.

Conforme Briggs et al. (2004) o prazer de beber cerveja pode ser concedido por muitos aspectos como: o conteúdo alcoólico, o valor nutritivo, a cor, a ausência de turbidez, a formação e manutenção de espuma, em que todos estes atributos contribuem para a sensação do prazer, mas é o sabor e o aroma, os que realmente determinam a aceitabilidade da cerveja.

Os cervejeiros precisam ter claras as especificações dos seus produtos, o que pode ser parcialmente obtido por meio de parâmetros de análise físico-químicas, tais como a teor de álcool, o valor de pH, a cor, etc., o uso de perfis sensoriais detalhados pelo gosto de especialistas (Simpson, 2006). Todos estes dados fornecem um maior conhecimento sobre o sabor do seu produto.

Taylor e Organ (2009) confirmam que em uma cervejaria, a implantação de um programa de análise sensorial pode contribuir direta ou indiretamente para a

qualidade do produto, o sucesso da marca, a lealdade do consumidor e, finalmente, a confiabilidade da empresa. Os autores afirmam que ao planejar a avaliação sensorial em uma cervejaria é importante entender que o teste sensorial feito por especialistas e testes de consumo feito por consumidores não são os mesmos. O consumidor fornece respostas sobre as preferências e a intenção de compra do produto, e os especialistas fornecem informações sobre as diferenças dos atributos e as relações entre as variáveis. Para fazer isso os provadores requerem o uso de olfato, paladar, visão, audição e tato.

Araujo; Silva e Minim (2003) atribuem importância às provas de Análise descritiva quantitativa e teste de aceitação, para conhecer os aspectos do produto e a intenção de compra pelo consumidor.

2.10 Avaliações energética, econômica e do meio ambiente

As mudanças climáticas e o aquecimento global estão fundamentalmente associados ao consumo de energia e às emissões de gases de efeito estufa, e são as principais ameaças da sociedade humana (NEJAT et al., 2015).

A energia é um dos principais constituintes da sociedade e é necessária para criar bens com base em recursos naturais e para fornecer muitos dos serviços com os quais somos nós os beneficiados (HINRICHS; KLEINBACH; DOS REIS, 2011). Conforme Gallego (1998) no atual cenário energético mundial, onde a escassez dos recursos se soma aos graves problemas ambientais oriundos da geração de energia e extração de produtos naturais, observa-se uma crescente preocupação com a busca de uma maior racionalidade no uso da energia, além da busca de processos menos influentes do ponto de vista ambiental. No Brasil, como em todo o mundo, o setor energético vem sofrendo profundas transformações motivadas não apenas por questões de ordem técnica e econômica, mas também por pressões da sociedade.

Eiker (2002) mencionou que as cervejarias precisam do fornecimento de seis tipos de serviços de vital importância: vapor, água, refrigeração, eletricidade, ar comprimido e recuperação de CO₂. Segundo o autor com a exceção do tratamento de água e da recuperação de CO₂, os outros serviços representam fontes de

energia que são subministradas de acordo com a necessidades do processo cervejeiro.

Fink et al., (2014) confirmam que a fabricação de malte e cerveja requer grandes quantidades de energia elétrica e térmica que hoje é gerada principalmente com combustíveis fósseis. Os processos, que requerem energia térmica, trabalham em temperaturas entre os 25 e 105 °C.

Schu (2009) revelou que as cervejarias são grandes consumidoras de energia e que esta é necessária em uma variedade de etapas dentre do processo produtivo. Larson (2018) comenta que a produção de cerveja é um processo que consome muita energia, tanto em termos de energia térmica quanto de energia elétrica. O autor apresenta na Tabela 18 e na Figura 9 a distribuição do consumo de energia térmica e energia elétrica em uma cervejaria.

Tabela 18 – Requerimento do consumo de energia térmica em uma cervejaria.

Área	
Sala de Brassagem	30 a 60 %
Envase	20 a 30 %
Aquecimento do ambiente	< 10 %
Outras utilidades	15 a 20 %

Fonte: Larson (2018).

Figura 9 – Requerimento do consumo de energia elétrica em uma cervejaria.

Fonte: Adaptado de Larson (2018).

A conservação de energia, mais precisamente a eficiência energética, vem ganhando importância nos últimos anos na indústria brasileira e mundial (SALAZAR, 2012). Conforme Müller e Methner (2015) no momento atual, onde está aumentando rapidamente o custo da energia e a necessidade da eficiência econômica, a indústria fabricante do malte está desenvolvendo pesquisas para diminuir o tempo de malteação e assim diminuir o custo de produção e aumentar a capacidade produtiva da fábrica. Os autores experimentaram três processos de malteação que chamaram de acelerados e os compararam com dois métodos já estabelecidos.

A eficiência energética nas indústrias é intensamente procurada em nível europeia e mundial (KUBULE et al., 2016). As indústrias consumidoras de energia são divididas como altas consumidoras e baixas consumidoras, e citam as indústrias de alimentos e manufatura como exemplos de baixas consumidoras de energia. Os autores comentaram sobre a necessidade da eficiência energética das cervejarias e estudaram um caso particular, em uma microcervejaria, onde focaram no consumo e a eficiência energética em diferentes departamentos do local.

Ghosh et al. (2018) confirmam que a economia e a sociedade estão inseridas entre si e dependem dos recursos naturais, e relacionam esta interligação ao desenvolvimento da economia ecológica. A economia é o estudo dos princípios que determinam a alocação de meios escassos entre finalidades competitivas, quando o objetivo da alocação é elevar ao máximo o lucro dos fins que a sociedade deseja (Febres, 1975). O autor divide esta convicção em três aspectos fundamentais a considerar: distintas finalidades simultâneas, meios escassos e a elevação ao máximo dos lucros, o que implica em obter o máximo retorno com o menor custo (maior eficiência).

Cândido (2008) argumentou que existem alguns elementos de custo total de um produto, como por exemplo: matérias-primas, administração, salários e supervisão e facilidades auxiliares.

Os impactos das economias industrializadas são visíveis na degradação ambiental, onde a saúde humana é comprometida pelo rápido crescimento econômico e emissões provocadas pelo alto consumo de energia (ZAMAN e MOEMEN 2017). A economia mundial está afetando os ecossistemas de uma maneira que coloca em risco os padrões de vida futuros e assinala o aquecimento global, o desaparecimento de estoques de recursos, o escasso suprimento de água

e a redução da biodiversidade, como consequências da falta de aplicação de uma política econômica que minimize os problemas ambientais (BRETSCHEGER, 2015). No lado positivo, conceitos como “economia verde” e “desenvolvimento sustentável” entraram proeminentemente no debate político, documentando o crescente número de pontes entre economia e ecologia.

Conforme Larson (2018) no processo de fabricação e envase da cerveja, são originados diferentes produtos secundários que não fazem parte do produto final. Os avanços tecnológicos e o melhor controle microbiológico continuam a permitir que o cervejeiro reduza as perdas de produtos e produza subprodutos valiosos de materiais que antes não eram utilizáveis e considerados resíduos. No entanto, algumas correntes secundárias ainda não têm opções de reutilização viáveis e, portanto, são descartadas ao meio ambiente.

É amplamente aceito que o futuro do nosso planeta deve ser uma das nossas principais preocupações (BRETSCHEGER, 2015). Castro (2003) afirma que todo processo produtivo que resulta na transformação de matérias-primas, requer o uso de algum recurso natural e gera algum tipo de impacto no meio ambiente.

Por exemplo, a geração diária de resíduos ocasiona um grande problema para o desenvolvimento futuro da civilização e da sociedade.

Tecnologias eficientes em termos de recursos são cada vez mais desenvolvidas e aplicadas mundialmente, as quais se incluem reduções significativas no uso de recursos naturais, especialmente os combustíveis fósseis (BRETSCHEGER, 2015). Conforme Barros (2009), ao produzir 1 GJ de energia procedente do petróleo, são gerados 73,3 kg de dióxido de carbono (CO_2), 0,003 kg de metano (CH_4) e 0,00006 kg de óxido nitroso (NO_2).

O uso de recursos energéticos e a aplicação de produtos químicos são dois dos principais fatores a afetar o meio ambiente (HINRICHS; KLEINBACH; DOS REIS, 2011). O crescimento do uso dos combustíveis fósseis observado desde o início da era industrial causou o aumento da concentração de dióxido de carbono atmosférico em torno de 30 % e, provavelmente, a elevação da temperatura global.

Com o país em desenvolvimento (“mercado emergente”, no jargão atual), é evidente que o Brasil deve prestar mais atenção a princípios de adequada gestão de seus recursos naturais (CAVALCANTI, 1999). Mais do que isso, segundo o autor, o país tem de conceber formas de promover bem-estar humano sem aceitar que seu capital natural seja usado ou degradado como se valesse quase nada. De

fato, o Brasil enfrenta o desafio de lutar contra a pobreza fazendo simultaneamente uma correta consideração dos custos ambientais envolvidos como parte das políticas de desenvolvimento.

As metas da sustentabilidade incluem impactos positivos no lucro da empresa e nas questões sociais, mantendo a preservação do meio ambiente (Larson, 2018). Segundo o autor, um objetivo básico para alcançar a sustentabilidade é a dedicação à conservação de energia na operação da cervejaria. Para operar sustentavelmente as cervejarias estão se esforçando para reduzir as emissões de gases de efeito estufa, o consumo de água e as perdas de cerveja.

Muster-Slawitsh et al., (2011) comentam que com a questão da sustentabilidade e o combate à mudança climática, as maiores forças das pesquisas na indústria de alimentos, está focada em tecnologias que traçam maior eficiência energética e a utilização de recursos renováveis para gerar energia. Para a indústria, as principais formas de reduzir os gases de efeito estufa, são: 1) incrementar a eficiência na convecção de energia, fazendo ênfases na cogeração, 2) intensificação do processo e integração do calor, 3) projeto de energia zero para salas de produção e prédios administrativos, 4) a mudança dos recursos energéticos, de fósseis para renováveis e 5) o uso do calor residual gerado pela indústria para fins de aquecimento geral fora da empresa. Os autores comentam o conceito de "cervejaria verde", que segundo eles, o objetivo é demonstrar o potencial que tem a cervejaria de reduzir o consumo de energia térmica, de abaixar substancialmente as emissões de CO₂ e de desenvolver uma excelente ferramenta para prover uma abordagem estratégica para alcançar essas reduções.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar a utilização de xarope de milho e xarope de cana como adjuntos em um processo tecnológico que permita elaborar cerveja com mosto super concentrado.

3.2 Específicos

- Avaliar os processos de elaboração de cervejas com mostos super concentrados utilizando o xarope de milho e o xarope de cana como adjuntos, de acordo com o planejamento de experimento, avaliando às proporções malte:adjunto e às temperaturas de fermentação definidas;
- Estudar os parâmetros fermentativos da tecnologia de produção das cervejas com mostos concentrados;
- Avaliar a qualidade sensorial das cervejas obtidas;
- Produzir em escala piloto a cerveja melhor avaliada pela análise sensorial e fazer a caracterização das bebidas obtidas;
- Avaliar e quantificar os aspectos econômicos, energéticos e produtivos no processo desenvolvido em escala piloto.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Planta Piloto de Bebidas da Escola de Engenharia de Lorena, da Universidade de São Paulo (EEL-USP). O projeto foi submetido ao comitê de ética da USP-Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo sendo aprovado com Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) número 51132915.0.0000.5390.

4.1 Material

As matérias-primas utilizadas para a obtenção das bebidas foram: água, malte de cevada tipo *Pilsen*, xarope de milho, xarope de cana e lúpulo. Foi utilizada uma levedura *Saccharomyces cerevisiae*, de baixa fermentação ou *Lager*. Também foram utilizadas uma enzima proteolítica e uma enzima alfa amilase termoestável.

4.1.1 Água

A água utilizada no processo foi procedente do poço artesiano localizado na EEL-USP. A Tabela 19 apresenta as características desta água, e os resultados obtidos das análises da água realizadas e descritas por Aizemberg (2012) que seguiu os procedimentos descritos no STANDARD METHODS.

Tabela 19 – Características físico-químicas da água do poço artesiano da EEL.

Características	Resultado
pH	6,66
Odor	Poucos odores
Sabor	Livre
Aspecto	Limpo
Turbidez	0,54 UNT
Cor	< 5 mg PI/L
Dureza total	26 mg/L
Cloretos	1,2 mg/L
Nitratos	0,19 mg/L
Ferro	0,055 mg/L

Fonte: Aizemberg (2012).

4.1.2 Malte

Foi utilizado malte do tipo *Pilsen*, doado pela Malteria Soufflet Brasil Ltda, localizada na cidade de Taubaté, no estado de São Paulo (SP). A Tabela 20 apresenta as principais características do malte, conforme descrito pelo fabricante.

Tabela 20 – Características do malte *Pilsen* utilizado no projeto.

Características	Resultados
Aspecto, Cor e Odor do malte	Normais
Umidade (%)	4,5
Extrato M.F. i.a. (%) ^a	81,0
Diferença de Extrato (%) ^b	1,5
Cor do mosto após fervura (EBC)	5,8
Sacarificação (min)	< 10
Proteína Total s.s. (%)	10,0
Nitrogênio Solúvel malte s.s. (mg/100g)	708
Nitrogênio Amíno Livre FAN (mg /100g) ss	140
Índice de Kolbach	45
Poder diastásico (WK)	272
pH do mosto	6,00

Fonte: Malteria Soufflet Brasil Ltda (2015).

Nota: a - rendimento do extrato moagem fina base seca.

b - diferenças de rendimentos de moagem fina e grossa.

4.1.3 Xarope de milho

O xarope de milho foi doado pela empresa Ingredion Brasil (Ing. Ind. Ltda), localizada em Mogi Guaçu – SP. O produto foi fornecido pela empresada da forma em que é comercializado, em baldes de 25 kg.

A Tabela 21 apresenta os dados do xarope segundo a ficha técnica da empresa.

Foi determinada a porcentagem de açúcares fermentescíveis do xarope de milho pela técnica de fermentação limite (EBC, 2005). Nesta técnica é fermentado um volume de 200 mL de mosto, sendo adicionado neste uma quantidade de 15 g de levedura seca, com o objetivo de conseguir fermentar a porcentagem máxima possível do extrato. O mosto se mantém sendo agitado a uma temperatura de 20 °C, por um tempo de 24 h, momento em que se pega uma amostra para determinar a densidade e o restante do conteúdo do mosto continua fermentando nas mesmas condições até as 27 h. Depois das 27 h se analisa a densidade nesse tempo e os

valores da densidade das duas amostras (4 e 27 h) devem ser similares para garantir a uma correta fermentação limite. Com os dados de densidade inicial e final do mosto, se calcula a porcentagem máxima que pode fermentar o mosto cervejeiro, ou seja a fermentação limite.

Os dados obtidos com esta técnica foram necessários para definir o valor máximo de etanol possível de se obter em cada ensaio, valor importante para calcular a eficiência de fermentação.

Tabela 21 – Principais especificações do xarope de milho MOR-SWEET® 1557.

Especificações	Valor
Sólidos Totais (%)	81,0 – 83,0
Baumé (comercial)	43,40 – 44,20
pH	4,5 – 5,5
Perfil de açúcares (% base seca):	Valor
Dextrose	máx. 12,0
Maltose	mín. 42,0
Maltotriose	min. 10,0
Outros	máx. 28

Fonte: Ingredion Brasil (2015).

4.1.4 Xarope de cana

O xarope de cana foi comprado da empresa Caseiro & Natural, em baldes de 25 kg. A concentração do xarope de cana foi medida no laboratório e o valor obtido foi de 80,4 °Brix. A Tabela 22 apresenta a composição do xarope correspondente a uma porção de 20 gramas, segundo informações fornecida pela empresa (ZONA CEREALISTA, 2018).

Com a técnica de fermentação limite (EBC, 2005), assim como para o xarope de milho, foi determinada a porcentagem de açúcares fermentescíveis do xarope de cana, a fim de estimar o valor máximo de etanol possível de se obter, o que é importante para calcular a eficiência de fermentação.

Tabela 22 – Composição do xarope de cana, Caseiro & Natural, para uma porção de 20 g.

Composição	U	Valor
Valor energético	Kcal	60
Carboidratos	g	15
Proteínas	g	0
Gorduras Totais	g	0
Gorduras Saturadas	g	0
Gorduras Trans	g	0
Fibra Alimentar	g	0
Sódio	mg	0

Fonte: Zona cerealista (2018).

4.1.5 Lúpulo

Foi utilizado, para proporcionar o amargor e o aroma à bebida, o lúpulo em pellets da variedade amarga Zeus com 13,9 % de alfa ácidos doado pela AmBev, unidade de Jacareí-SP. Este lúpulo é característico para proporcionar amargor, mas também possui características cítricas agradáveis, que podem beneficiar a bebida.

4.2 Levedura

A levedura *S. cerevisiae*, denominada de PPB-01 pertencente à Planta Piloto de Bebidas da EEL, e classificada como levedura cervejeira do tipo *Lager* ou de baixa fermentação, foi a espécie utilizada nos processos fermentativos. Esta cepa é tida como tolerante a altas concentrações de etanol e já foi utilizada por Abreu et al., (2004) e Martinez (2014) sendo considerada ótima para a fermentação de mostos concentrados.

4.3 Inóculo

A levedura previamente cultivada e mantida no banco de cepas da PPB da EEL, foi ativada sendo transferida de um meio de cultura sólido (ágar malte) para mosto puro malte com uma concentração de 12 °P. As células foram transferidas

pelo método de inoculações sucessivas em frascos Erlenmeyer de 100, 500, 1000 e 5000 mL, contendo um volume de mosto em cada caso de 50 % da capacidade do frasco. Em todos os casos o cultivo foi mantido sob agitação rotatória de 300rpm a 30 °C por um tempo mínimo de 24 h, em uma incubadora refrigerada marca CIENTEC.

4.4 Planejamento Experimental

Os experimentos foram conduzidos de acordo com um planejamento fatorial 2^3 , onde foram avaliados os três fatores mostrados na Tabela 23, sendo um fator qualitativo (adjunto) e dois quantitativos, a temperatura de fermentação e a proporção de adjunto. A Metodologia de Superfície de Resposta, foi utilizada e um desenho composto com ponto central e rotacional com os três fatores e usando um valor de $\alpha = 1,68$, para os dois fatores quantitativos.

Tabela 23 – Fatores avaliados no planejamento experimental.

Fatores	Níveis	Xi
Adjunto	Xarope de Milho	-1
	Xarope de Cana	+1
Temperatura de Fermentação	8,6 °C	-1,68
	10 °C	-1
	12 °C	0
	14 °C	+1
	15,4 °C	+1,68
Proporção de malte:adjunto	75,1:24,9	-1,68
	70:30	-1
	63,5:37,5	0
	55:45	+1
	49,9:50,1	+1,68

Fonte: Autoria própria.

A Tabela 24 mostra a matriz do planejamento utilizada para a obtenção das superfícies de respostas. Pode-se observar que os experimentos do 9 ao 16 são os que representam os pontos axiais do desenho e os experimentos do 17 ao 22, representam os pontos centrais do desenho. As respostas avaliadas foram: o tempo

de fermentação, a concentração de etanol, a cor, o fator de diluição e a atenuação real.

Tabela 24 – Matriz de planejamento utilizada para a obtenção da superfície de resposta.

No Exp	Ensaio	F1	F2	F3
1	M;10°C;30%	-1	-1	-1
2	C;10°C;30%	+1	-1	-1
3	M;14°C;30%	-1	+1	-1
4	C;14°C;30%	+1	+1	-1
5	M;10°C;45%	-1	-1	+1
6	C;10°C;45%	+1	-1	+1
7	M;14°C;45%	-1	+1	+1
8	C;14°C;45%	+1	+1	+1
9	M;8,6°C;37,5%	-1	-1,68	0
10	M;15,4°C;37,5%	-1	+1,68	0
11	M;12°C;24,9%	-1	0	-1,68
12	M;12°C;50,1%	-1	0	+1,68
13	C;8,6°C;37,5%	+1	-1,68	0
14	C;15,4°C;37,5%	+1	+1,68	0
15	C;12°C;24,9%	+1	0	-1,68
16	C;12°C;50,1%	+1	0	+1,68
17	M;12°C;37,5%	-1	0	0
18	M;12°C;37,5%	-1	0	0
19	M;12°C;37,5%	-1	0	0
20	C;12°C;37,5%	+1	0	0
21	C;12°C;37,5%	+1	0	0
22	C;12°C;37,5%	+1	0	0

Fonte: Autoria própria.

Para análise estatística e geração das tabelas de análise de variância, foi utilizado o programa Design-Expert 7. Já os gráficos de superfície de resposta foram gerados utilizando o programa Statistica 10.

Pela pesquisa ter utilizado um número grande de ensaios, e afim de facilitar o entendimento do leitor, os fatores em estudo foram codificados da seguinte forma:

- xarope de milho como adjunto (M);
- xarope de cana como adjunto (C);
- temperatura de fermentação (número acompanhado de °C);
- proporção de adjunto (número acompanhado de %).

Como exemplo, a cerveja com xarope de milho, fermentada a 10 °C, com 30 % de adjunto, a qual se distingue como M;10°C;30%.

4.5 Processamento

Foram realizados ensaios em duplicata em escala de 3 L de mosto testando as diferentes variantes expostas no planejamento de experimentos. A melhor resposta obtida em escala de bancada foi selecionada para ser produzida em escala piloto de 1 hL.

Nesta mesma escala também foi produzida uma cerveja com concentração de 10 °P, elaborada com nas mesmas condições de adjunto, temperatura de fermentação e proporção de adjunto, para comparar com a bebida obtida e denominada de cerveja padrão.

Para a preparação dos mostos para a obtenção das cervejas com mostos super concentrado, foi inicialmente produzido um mosto de puro malte com concentração em torno de 16 °P e posteriormente foi adicionado, na fermentação, o xarope de milho ou o xarope de cana com concentrações ao redor de 65 °P.

4.5.1 Preparação do xarope de milho e do xarope de cana

Na pesquisa foi avaliada a utilização do xarope de milho e do xarope de cana, como adjunto de malte.

O xarope de milho, procedente da indústria, tem uma concentração original entre 81 e 83 % de sólidos dissolvidos (Tabela 20). O xarope de cana oriundo do fornecedor tem uma concentração de 80,4 °P. Para facilitar o manuseio para sua utilização no processo cervejeiro, os dois xaropes foram diluídos até a concentração de 65 °P, fervidos por 15 minutos, envasado a quente e resfriado até a temperatura de fermentação. Os volumes de xarope foram calculados com o auxílio da equação utilizada por Martínez (2014).

$$V_{xarope} = \frac{(V_{mosto} \times C_{mosto} \times P_x)}{(C_{xarope} \times P_m)} \quad (1)$$

Nota: V_{mosto} – Volume de mosto (hL).
 V_{xarope} – Volume de xarope (hL).
 C_{mosto} – Concentração do mosto (kg/hL).
 C_{xarope} – Concentração do xarope (kg/hL).
 P_m – Porcentagem de extrato de malte na formulação (%).
 P_x – Porcentagem de extrato de milho na formulação (%).

4.5.2 Moagem do malte

Para o desenvolvimento do projeto, foi realizada a moagem grossa dos grãos, utilizando um moinho de dois rolos de aço inox, fabricado pela MecBier, com uma separação entre os rolos de 0,6 mm.

4.5.3 Mosturação

Os mostos concentrados foram preparados a partir de um mosto puro malte com 16 °P de concentração, utilizando uma relação água/malte, de 2,5 L/kg. O processo de mosturação foi desenvolvido como ilustrado na Figura 8 (pág. 78), proposto por Martínez (2014). Durante o procedimento, quando a temperatura atingiu 48 °C, foi adicionada a enzima papaína numa relação de 34 UA/kg de malte, com o objetivo de proporcionar uma maior diluição de proteínas e assim aumentar a concentração de FAN no mosto cervejeiro. Para facilitar a filtração do mosto foi adicionada a enzima alfa amilase termoestável Termamyl 120–L em uma proporção de 0,5 mL por quilograma de malte na temperatura de 94 °C.

O mosto padrão, foi preparado com uma concentração de extrato original de 10 °P, sendo usado no processo de mosturação uma relação de 4 L de água por quilograma de malte. A Figura 10 apresenta o gráfico de mosturação utilizado para obter estes mostos.

Para a elaboração dos mostos, tanto os concentrados quanto o padrão, o pH da água foi ajustado em 5,5, com ácido fosfórico com 85 % de pureza.

Para obter os mostos concentrados (Figura 8), utilizados nas duas escalas, teve que ser efetuada operações distintas quando comparado como o mosto padrão. Os mostos concentrados foram produzidos com um maior tempo de

repouso a 63 °C (1 hora a mais), para a ação da enzima papaína procurando aumentar a hidrólise das proteínas e obter uma maior concentração de FAN. A outra diferença para a obtenção do mosto concentrado, foi a elevação da temperatura e a adição da enzima Termamyl-120L (alfa amilase termoestável) para facilitar a filtração do mosto, na etapa seguinte. Estes procedimentos não foram feitos na elaboração do mosto padrão.

Figura 10 – Perfil de mosturação utilizado para obter o mosto padrão, na escala piloto.

Fonte: Martínez (2014).

4.5.4 Filtração do mosto

No final do processo de mosturação a parte líquida solúvel e a parte insolúvel do grão, foram transferidas para um tanque de filtração, onde se formou uma camada filtrante com o bagaço de malte. Este equipamento possui um falso fundo com fendas de 0,7 mm de largura e é adequado para filtrar mosto obtido de malte com moagem grossa. As temperaturas de filtração do mostos concentrados (nas duas escalas) e do mosto padrão (na escala piloto) foram mantidas a 94 e 78 °C, respectivamente. Os mostos obtidos foram recirculados no tanque de filtração, onde o bagaço formou uma torta filtrante, e esta recirculação foi mantida até obter um mosto clarificado. Após a clarificação, se extraiu o primeiro extrato para a tina de fervura, e posteriormente o bagaço foi lavado com água quente, conhecida no

processo cervejeiro como água secundária, na mesma temperatura da mistura, obtendo o segundo extrato, que também foi enviado para a tina de fervura. O processo de lavagem terminou quando o extrato residual da filtração foi inferior a uma concentração de 2 °P.

4.5.5 Fervura do mosto

Os mostos concentrados produzidos nas duas escalas, foram fervidos por aproximadamente 1,5 h. Durante esta etapa foi adicionado lúpulo tipo Zeus, em pellets em quantidade suficiente para atingir 12 IBU de amargor na cerveja final diluída. O final da fervura foi determinado pelo ajuste da concentração do mosto puro malte com a concentração de extrato original de 16 °P.

O mosto padrão, elaborado na escala piloto, também foi fervido por aproximadamente 1,5 h. Nesta etapa foi adicionado lúpulo tipo Zeus, em pellets, em quantidade suficiente para atingir 12 IBU. Ainda foi adicionado a quantidade de xarope de cana, para ajustar a proporção de malte/adjunto em 62,5/37,5 %. O final da etapa de fervura foi determinado pelo ajuste da concentração de extrato original no mosto em 10 °P.

4.5.6 Fermentação – Maturação

Previamente, foram determinadas as atenuações limites, conforme instruções da EBC (2005), para estimar a fermentabilidade dos mostos nas diferentes concentrações e proporções de malte e adjuntos estudadas. Com os dados obtidos da atenuação limite e com as concentrações de extrato original dos mostos, foi possível calcular a massa de açúcares fermentescíveis que continha a composição do meio de fermentação em cada condição avaliada.

$$M_{af} = V_m \times C_m \times F_l \times 1000 \quad (2)$$

Nota: M_{af} – Massa de açúcares fermentáveis (g).

V_m – Volume total de mosto (hL).

C_m – Concentração total do mosto (kg/hL).

F_i – Fração da fermentação limite.

Posteriormente foi determinada a massa de levedura que deveria ser inoculada, em cada experimento que foi de 0.1186 g/g de levedura/açúcares fermentáveis, conforme recomendado por Carrillo, Carrillo e Martínez (2011) e Martínez (2014).

O processo de fermentação utilizado nas diferentes situações nas duas escalas, foi conduzido em regime descontínuo alimentado por pulsos. Inicialmente a fermentação foi conduzida com o mosto puro malte com concentração em torno de 16 °P. Quando a atenuação real do extrato atingia entre 50 e 60 %, era adicionado o volume de xarope (de milho ou cana), previamente definido para cada ensaio, com concentração de 65 °P.

O mosto padrão obtido na escala piloto, com a concentração de extrato original de 10 °P que foi ajustada na fervura, foi fermentado pelo método descontínuo alimentado.

Após o término da fermentação principal, a temperatura da cerveja foi reduzida para entre 3 e 4 °C, e o excesso de levedura coagulada foi retirada pelo fundo do tanque, para o início da fermentação secundária, ou maturação, da cerveja que prosseguiu por 14 dias.

As cervejas elaboradas em escala de bancada foram maturadas por duas semanas, e percebeu-se que com isto, além da modificação do sabor da bebida, se conseguiu uma boa clarificação delas. No final do processo de maturação as cervejas foram diluídas, a uma concentração de extrato original de 10 °P e envasadas em garrafas de 600 mL. Antes de engarrafar foi adicionado um "priming" (5 g de açúcar refinado/L de cerveja maturada e diluída) para poder realizar uma segunda fermentação (dentro da garrafa) e assim gaseificar a bebida.

4.5.7 Acabamento da cerveja

Para estimar a quantidade da água de diluição a ser utilizada, foi utilizada a equação proposta por Martínez (2014).

$$V_a = \frac{(V_m \times C_m) + (V_x \times C_x)}{C_{dc}} - (V_m + V_x) \quad (3)$$

Nota: V_a – Volume de água a adicionar para diluir a cerveja super concentrada (hL).

V_m – Volume de mosto puro de malte (hL).

C_m – Concentração do mosto de malte (kg/hL).

V_x – Volume de xarope de milho (hL).

C_x – Concentração do xarope de milho (kg/hL).

C_{dc} – Concentração em açúcares (extrato original) desejada para a cerveja diluída (kg/hL).

A cerveja selecionada em escala de bancada e uma cerveja padrão (10 °P), com o mesmo adjunto, a mesma temperatura de fermentação e a mesma proporção de adjunto, foram elaboradas em escala piloto.

As cervejas depois maturadas foram filtradas a frio em filtro de discos com adição de terra diatomácea, e posteriormente em reator fechado, foram gaseificadas e diluída (no caso da cerveja concentrada).

A água de diluição, antes de ser utilizada, também foi filtrada nas mesmas condições da cerveja, porém a uma temperatura de 90 °C. Depois a água foi resfriada na mesma temperatura da cerveja concentrada, em um reator fechado, e em seguida gaseificada até alcançar um conteúdo de CO₂, similar ao da cerveja. A cerveja padrão foi filtrada e gaseificada nas mesmas condições da cerveja concentrada. Ambas as cervejas foram envasadas em garrafas de 600mL e depois pasteurizadas por aquecimento a 60 °C por 20 min., seguida do resfriamento para temperatura ambiente.

4.6 Determinação dos parâmetros do mosto

Foram analisados a concentração de extrato aparente (°P), de extrato real (°P), de extrato fermentescível (°P), de FAN, e também o pH dos mostos.

A concentração de extratos, assim como os outros parâmetros da fermentação, foram determinados em analisadores de cerveja da marca Anton Paar, modelo DAS 5000, AlcoLyzer Beer e também pelo equipamento da Anton Paar Alex 500. As concentrações de extratos fermentescíveis e a concentração de FAN foram obtidas de acordo com técnicas descritas pela EBC (2005). As análises de

pH, tanto do mosto quanto das cervejas, foram feitas em medidor de pH da marca MARCONI, modelo MA-522.

4.7 Determinação dos parâmetros fermentativos

Os parâmetros fermentativos foram determinados, com base nas amostras retiradas a cada 12 h. Foram medidos o pH, as concentrações de extrato aparente, de extrato real, as concentrações de álcool e as densidades dos mostos e das cervejas. Estas análises foram realizadas no analisador de cerveja e em equipamento medidor de pH, como mencionados no item anterior.

4.8 Cálculo dos parâmetros fermentativos

Ao final da etapa da fermentação e da maturação, foram calculados os seguintes parâmetros fermentativos do processo: fator de conversão de substrato em células ($Y_{x/s}$), o fator de conversão de substrato em produto ($Y_{P/S}$), grau de atenuação aparente e real (AT) e eficiência da conversão de substrato em etanol (E_{fp}). Para os cálculos, os dados da concentração de extrato em graus Platô, expressa em (m/m), foram transformados para a concentração em (m/v), e os valores foram obtidos da Tabela de Goldiner et Klemann (MEDEIROS et al., 2018).

As formulas utilizadas para os cálculos dos parâmetros cinéticos estão relacionadas abaixo:

$$Y_{x/s} = \frac{(\Delta X)}{(\Delta S)} \quad (4)$$

$$AR = \frac{EO - ER}{EO} \times 100 \quad (5)$$

$$E_{fp} = \frac{(Y_{P/S})}{(Y_{P/S} \text{ Balling})} \times 100 \quad (6)$$

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (7)$$

Nota: $Y_{x/s}$ – Fator de conversão de substrato em células que não considera manutenção (g/g).

AR – Grau de atenuação real do extrato (%).

EO – Extrato original do mosto (°P).

ER – Extrato real do mosto (°P).

Efp – eficiência da conversão de substrato em etanol (%).

ΔX – Diferença entre a concentração inicial e final de células no mosto.

ΔS – Diferença entre a concentração inicial e final de substrato no mosto.

ΔP – Diferença entre a concentração inicial e final de etanol no mosto.

$Y_{p/s}$ – Fator de conversão de extrato em etanol (g/g).

$Y_{p/s}$ Balling – Fator de conversão de extrato em etanol (g/g), de acordo com o coeficiente de Balling (KRISTIANSEN, 2007).

4.9 Avaliação da concentração do nitrogênio amínico livre

Foram quantificadas as concentrações de nitrogênio amínico livre dos mostos e das cervejas pelo método estabelecido pela EBC (2005), e analisada a influência deste parâmetro, no processo de fermentação.

4.10 Avaliação sensorial da cervejas

As cervejas produzidas foram submetidas aos testes de análises sensoriais, tanto aquelas obtidas em escala de bancada, quanto as produzidas na escala piloto. Foram realizados testes de aceitação com a participação de consumidores comuns (com idades superiores a 18 anos e sem experiência em análises descritiva de cerveja). Os testes foram desenvolvidos no Laboratório da Planta Piloto de Bebidas da Escola de Engenharia de Lorena, em cabines individuais sob condições adequadas de iluminação e de temperatura.

As amostras de cervejas foram servidas em copos descartáveis de 50mL a uma temperatura de 8 °C, codificados com números aleatórios de três dígitos, juntamente com um copo de água, para enxaguar a boca entre as avaliações. O teste de aceitação foi aplicado em pelo menos, 60 consumidores de cerveja, através de escala hedônica de 9 pontos, sendo 1 = desgostei extremamente e 9 = gostei extremamente e além disso, foi avaliada a intenção de compra, pelos

consumidores que participaram na análise (apêndice A). Para cada provador foi distribuído um termo de consentimento para sua participação na pesquisa em questão (apêndice B).

Cada atributo analisado foi estudado estatisticamente, aplicado a análise de variância (ANOVA) e feito o teste de Tukey, com um nível de 5 % de probabilidades, para comprovar as diferenças significativas entre as médias das notas atribuídas pelos avaliadores.

4.11 Avaliação energética econômica e ambiental das cervejas estudadas em escala piloto

Foram estimados os custos energéticos dos processos de produção das cervejas em escala piloto. Os cálculos foram realizados tendo como base de cálculo um volume de produção de 1 hL. As equações utilizadas nesta etapa, foram as seguintes:

$$Q_{abs} = (M_m + A) \times Cp \times \Delta T \quad (8)$$

$$Q_{aq} = V_1 \times \rho \times Cp \times \Delta T \quad (9)$$

$$Q_{evap} = (V_1 - V_f) \times \rho \times \lambda \quad (10)$$

$$Q_{ced} = V_f \times \rho \times Cp \times \Delta T \quad (11)$$

$$Cp = \frac{H}{100} + 0.2 \times \frac{100 - H}{100} \quad (12)$$

Nota: Q_{abs} – Calor que absorve a massa da mistura de água e malte (kcal).

Q_{cal} – Calor que deve absorve o mosto para elevar sua temperatura à fervura (kcal).

Q_{evap} – Calor que se consome na fervura do mosto (kcal).

Q_{ced} – Calor que cede a massa da mistura de água e malte (kcal).

M_m – Massa de malte (kg).

A – Massa de água (kg).
 ΔT – Diferença de temperatura ($^{\circ}\text{C}$).
H – Umidade (%).
 V_1 – Volume de mosto ao início da fervura (hL).
 V_f – Volume de mosto ao final da fervura (hL).
 ρ – Densidade do mosto (kg/hL).
 λ – Calor latente de evaporação (kcal/kg).

A fórmula para calcular o calor específico sob pressão constante (c_p), foi a proposta por Earle (1968). Foram calculados os consumos energéticos e depois comparados especificamente de acordo com o volume.

Com os dados da formulação selecionada foi feita uma estimativa econômica e comparação dos processos das cervejas elaboradas na escala piloto (cerveja super concentrada e cerveja padrão). Além conhecendo que, conforme Barros (2009), que para produzir um GJ de energia procedente do petróleo se produz 73,3 kg de CO_2 , 0,003 kg de CH_4 e 0,00006 kg de NO_2 , e calculando a quantidade de energia deixada de consumir no processo, foram calculadas as quantidades de CO_2 , CH_4 e N_2O que seriam deixadas de ser emitidas ao meio ambiente, caso fosse aplicada esta tecnologia.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados das cervejas elaboradas em escala de bancada

5.1.1 Preparação e composição do mosto

Os mostos concentrados foram preparados com um dos dois adjuntos avaliados, contendo xarope de cana ou xarope de milho, para obter um volume de meio de 3 litros. A Tabela 25 mostra as diferentes condições de preparação destes mostos.

Tabela 25 – Condições para a fermentação dos mostos nas diferentes cervejas estudadas em escala de bancada.

Parâmetro	V (L)	V mosto puro de malte (L)	V de xarope a 65°P (L)	Extrato original (°P)	Extrato original (Kg/hL)	Atenuação limite (%)	Massa de açúcar ferm (g)	Massa de levedura (g)
Ensaios								
M;10°C;30%	3	2,760	0,240	20,75	22,50	70,42	475,4	56,38
C;10°C;30%	3	2,760	0,240	20,75	22,50	74,62	503,8	59,75
M;14°C;30%	3	2,760	0,240	20,75	22,50	70,42	475,4	56,38
C;14°C;30%	3	2,760	0,240	20,75	22,50	74,62	503,8	59,75
M;10°C;45%	3	2,580	0,420	24,20	26,62	70,43	562,3	66,69
C;10°C;45%	3	2,580	0,420	24,20	26,62	76,73	612,7	72,66
M;14°C;45%	3	2,580	0,420	24,20	26,62	70,43	562,3	66,69
C;14°C;45%	3	2,580	0,420	24,20	26,62	76,73	612,7	72,66
M;8,6°C;37,5%	3	2,681	0,319	22,28	24,31	70,42	513,6	60,91
M;15,4°C;37,5%	3	2,681	0,319	22,28	24,31	70,42	513,6	60,91
M;12°C;24,9%	3	2,814	0,186	19,70	21,27	70,41	449,3	53,29
M;12°C;50,1%	3	2,500	0,500	25,70	28,44	70,43	601,0	71,28
C;8,6°C;37,5%	3	2,681	0,319	22,28	24,31	75,68	551,9	65,45
C;15,4°C;37,5%	3	2,681	0,319	22,28	24,31	75,68	551,9	65,45
C;12°C;24,9%	3	2,814	0,186	19,70	21,27	73,90	471,6	55,93
C;12°C;50,1%	3	2,500	0,500	25,70	28,44	77,45	660,9	78,38
M;12°C;37,5%	3	2,681	0,319	22,28	24,31	70,42	513,6	60,91
C;12°C;37,5%	3	2,681	0,319	22,28	24,31	75,68	551,9	65,45

Fonte: Autoria própria.

Previamente foram determinadas as atenuações limites dos mostos puro malte (70,40 %), puro milho (70,46 %) e puro cana (84,47 %). Também foi determinada a atenuação limite dos mostos de cada variante estudada, resultados

que estão apresentados na Tabela 24 e que foram obtidos utilizando a metodologia da fermentação limite proposta pela EBC (2005). Observa-se que aquelas condições em que se usou o xarope de cana como adjunto e nas mesmas proporções, a atenuação limite apresentou valores maiores que aquelas atenuações obtidas com o mosto que utilizou o xarope de milho. Isto ocorreu porque o xarope de cana, é composto predominantemente por sacarose, glicose e frutose, açúcares facilmente fermentescíveis, enquanto, parte do extrato do xarope de milho é composto por dextrinas, carboidrato que a levedura não consegue metabolizar, porque não possui mecanismo para transportar estes açúcares para o interior da célula.

Com base nos dados obtidos da fermentação limite e na concentração teórica de extrato original, foi calculada a massas de açúcares fermentescíveis (equação 2) contida nos mostos e em seguida estimada as massas de leveduras a serem inoculadas em cada condição, de acordo com o valor estimado de 0,1186 g de levedura por cada grama de açúcar fermentável, utilizado por Carrillo, Carrillo e Martínez (2011) e por Martínez (2014). Observa-se também que em todos os casos as concentrações estimadas dos extratos originais nos mostos ficaram acima dos 18 °P, valor este que por definição, classificam a bebida como aquelas obtidas a partir de mostos super concentrados.

As concentrações de extratos originais dos mostos ficaram maiores quando aumentou a proporção dos adjuntos, tanto de milho, quanto de cana. Isso acontece porque sempre se trabalhou com concentrações fixas do mosto de malte (16 °P) e dos xaropes (65°P). Por este motivo, os mostos que contém uma maior proporção de adjunto, precisam de um maior volume de xarope e um menor volume de mosto de malte, para cumprir com o requerimento, e dessa forma aumenta sua concentração de extrato original quando comparada com outra variante de menor proporção de adjunto.

5.1.2 Avaliação da concentração do nitrogênio amínico livre (FAN) nos mostos

A Tabela 26 mostra a composição de FAN dos mostos obtidos em diferentes condições.

Tabela 26 – Comparação da concentração de FAN nos mostos, para as diferentes cervejas estudadas, com a proporção de referência (350) proposta por Basařová e Čepička (1985).

Ensaio		EO (Kg/hL)	AF (mg/L)	FAN (mg/L)	AF/FAN	AF/FAN/350
M;10°C;30%	I	17,67	124396,8	487,09	255,4	0,73
	T	22,94	161538,9	448,12	360,5	1,03
C;10°C;30%	I	17,69	124537,6	488,25	255,1	0,73
	T	23,84	177896,5	449,19	396,0	1,13
M;14°C;30%	I	17,44	122777,6	478,25	256,7	0,73
	T	22,84	160834,7	439,99	365,5	1,04
C;14°C;30%	I	17,59	123833,6	481,06	257,4	0,74
	T	23,74	177150,3	442,58	400,3	1,14
M;10°C;45%	I	18,20	128128,0	499,17	256,7	0,73
	T	25,53	179800,1	429,29	418,8	1,20
C;10°C;45%	I	18,13	127635,2	497,69	256,5	0,73
	T	26,69	204796,4	428,01	478,5	1,37
M;14°C;45%	I	17,95	126368,0	494,35	255,6	0,73
	T	25,50	179588,9	425,14	422,4	1,21
C;14°C;45%	I	18,04	127001,6	495,92	256,1	0,73
	T	26,50	203338,5	426,49	476,8	1,36
M;8,6°C;37,5%	I	16,71	117638,4	485,22	242,4	0,69
	T	24,29	171056,3	433,79	394,3	1,13
M;15,4°C;37,5%	I	16,71	117638,4	487,03	241,5	0,69
	T	24,35	171478,8	435,40	393,8	1,13
M;12°C;24,9%	I	17,51	123270,4	491,27	250,9	0,72
	T	22,10	155617,0	460,81	337,7	0,96
M;12°C;50,1%	I	17,51	123270,4	489,04	252,1	0,72
	T	29,40	207064,4	407,37	508,3	1,45
C;8,6°C;37,5%	I	16,71	117638,4	484,56	242,8	0,69
	T	24,05	182001,4	433,20	420,1	1,20
C;15,4°C;37,5%	I	16,71	117638,4	483,91	243,1	0,69
	T	24,25	183514,9	432,62	424,2	1,21
C;12°C;24,9%	I	17,51	123270,4	490,09	251,5	0,72
	T	23,50	173673,1	459,70	377,8	1,08
C;12°C;50,1%	I	17,51	123270,4	489,13	252,0	0,72
	T	29,47	228242,4	407,44	560,2	1,60
M;12°C;37,5%	I	16,64	117145,6	495,18	236,6	0,68
	T	24,62	173380,2	442,69	391,7	1,12
M;12°C;37,5%	I	16,84	118553,6	472,23	251,1	0,72
	T	24,52	172676,0	422,18	409,0	1,17
M;12°C;37,5%	I	16,76	117990,4	491,34	240,1	0,69
	T	23,78	167464,7	439,26	381,2	1,09
C;12°C;37,5%	I	16,66	117286,4	482,23	243,2	0,69
	T	24,52	185558,2	431,12	430,4	1,23
C;12°C;37,5%	I	16,23	114259,2	492,11	232,2	0,66
	T	24,24	183439,2	439,95	417,0	1,19
C;12°C;37,5%	I	17,3	121792,0	487,71	249,7	0,71
	T	24,84	187979,8	436,02	431,1	1,23

Fonte: Autoria própria.

Nota: I: inicial;
T: total;
EO: Extrato Original (kg/hL);
AF: Concentração de açúcares fermentáveis (mg/L);
FAN: Concentração de nitrogênio amínico livre (mg/L);

Como pode ser visto, todas as formulações tiveram no início da fermentação as proporções de açúcares fermentável/FAN, superiores a aquela considerada como ideal por Basařová e Čepička (1985) que é de 350 açúcares fermentescíveis/FAN.

A tabela exhibe os extratos originais equivalentes em (m/v), inicial e total. Os valores de extrato inicial (I) são do mosto puro de malte no início da fermentação e os valores de extrato total (T) foram estimados considerando a mistura, como se o xarope fosse adicionado no início da formulação, porém os xaropes foram colocados durante a fermentação pelo processo descontínuo alimentado. Vale ressaltar que os mostos tem no início uma concentração de FAN elevada. Isto, se deve ao fato de que as fermentações iniciaram com um mosto de puro malte e, além disso, foi adicionada a enzima papaína, que provavelmente contribuiu para o aumento do potencial de hidrólises das proteínas do malte.

Percebe-se que nas concentrações iniciais de FAN dos mostos obtidos com as diferentes proporções, são bem próximos, isto era esperado porque elaborou-se um mosto puro malte com um procedimento de mosturação já pré-estabelecido, e em seguida foi utilizado o volume necessário para cada um dos experimentos. Já os valores mostrados na Tabela 25 como total (T), que foram estimados depois da adição do xarope, nota-se que houve uma diminuição das concentrações de FAN, o que foi ocasionado devido a diluição que gera o xarope que não incrementa nitrogênio ao mosto. O que pode ser confirmado, comparando os resultados obtidos, que quando mais aumenta a proporção de adjunto, mais aumenta a diluição do FAN, por ter sido adicionado um volume maior de xarope para a obtenção do mosto.

Basařová e Čepička (1985) concluiu, nas fermentações das cervejas Tchecas, que a relação ótima é de 350 unidades de açúcares fermentáveis para cada unidade de FAN. Ao comparar a proporção de açúcares fermentáveis/FAN/350 para cada experiência, nota-se, que mesmo o mosto sendo preparado com diferentes proporções, quando se trata de um mesmo adjunto, a

relação açúcar/FAN se mantém perto do ideal quanto menor for a proporção de adjunto. O que se torna evidente, porque os xaropes não oferecem FAN ao mosto.

Já ao se comparar as formulações feitas com as mesmas proporções malte/adjunto, mas com adjuntos diferentes percebe-se que a proporção de açúcares fermentáveis/FAN/350 é mais perto do ideal quando foi utilizado o xarope de milho. Isto acontece devido à fermentabilidade dos adjuntos, que é maior no xarope de cana. Em algumas formulações as proporções de açúcar/FAN/350 ficaram acima do valor proposto por Basařová e Čepička (1985), mas não houve interferência nas fermentações que ocorreram normalmente. Nos casos, em que foram produzidas cervejas utilizando 50,1 % de adjunto, as fermentações se tornaram mais lentas, chegando a ser de 21 dias quando utilizado o xarope de cana como adjunto e 24 dias quando utilizado o xarope de milho como adjunto (Figura 14). Isto pode ser atribuído ao fato de que os valores obtidos para o parâmetro de açúcar fermentável/FAN, foram mais deficientes nessas variantes, além da concentração alcoólica que pode ter exercido um efeito de inibição pelo produto, na levedura. No caso dos mostos preparados com esta proporção de adjunto e a pretensão de diminuir o tempo de fermentação, os estudos poderiam ser feitos sim, porém com a adição de nutrientes ao mosto cervejeiro.

Zhao et al., (2013) utilizaram na etapa de mosturação três proteases comerciais e obtiveram diferentes concentrações de FAN para as diferentes enzimas utilizadas, sendo de 398 mg/L com a Neutrase, de 384 mg/L com a Flavorzyme e de 433 mg/L com a Protamex. Os autores trabalharam com concentração de mosto de 12 °P, pelo que ajustando a concentração de FAN à de um mosto com 16 °P, que é a concentração com que se trabalhou no projeto, os resultados seriam de em redor de 537 mg/L com a Neutrase, de 518 mg/L com a Flavorzyme e de 584 mg/L com a Protamex. Ao comparar os resultados dos autores com os do projeto desenvolvido, que foi utilizada a papaína e onde as concentrações de FAN foram em redor dos 500 mg/L para o mosto puro malte, pode-se observar que os resultados obtidos com a Neutrase e a Flavorzyme foram similares. Entretanto os resultados do uso da Protamex foram superiores, chegando perto dos 600 mg/L.

Martínez (2014) elaborou mostos super concentrados com condições similares à utilizada no projeto e teve concentrações 500 mg/L de FAN para o mosto

puro malte. Ao comparar os resultados obtidos no projeto com aqueles mencionado pelo autor, encontra-se valores similares nas concentrações de FAN.

5.1.3 Avaliação do processo fermentativo

Os estudos feitos em escala de bancada com um volume de mosto de 3 L, foram feitos em duplicatas, e em todas as formulações com as diferentes proporções de malte/adjunto. Com as médias dos resultados foram traçados os gráficos avaliando-se o consumo de extrato e a formação de etanol para todas as provas desenvolvidas (Apêndice C).

Os resultados sobre o perfil de formação de etanol das cervejas produzidas com as diferentes formulações de malte e adjunto, nas proporções 70/30, 55/45, 62,5/37,5 e 24,9/50,1, com milho e com cana, estão apresentados nas Figuras 11, 12, 13 e 14, respectivamente.

Figura 11 – Formação de etanol nas fermentações para as cervejas com 70/30 % de malte/ adjunto, em escala de bancada, conduzidas nas temperaturas de 10 e 14 °C.

Fonte: Autoria própria.

Figura 12 – Formação de etanol nas fermentações para as cervejas com 55/45 % de malte/ adjunto, em escala de bancada, conduzidas nas temperatura de 10 e 14 °C.

Fonte: Autoria própria.

Figura 13 – Formação de etanol nas fermentações para as cervejas com 62,5/37,5 % de malte/ adjunto, em escala de bancada

Fonte: Autoria própria.

Figura 14 – Formação de etanol nas fermentações para as cervejas com 24,9 e 50,1 % de adjunto, em escala de bancada.

Fonte: Autoria própria.

Em todas fermentações pode-se observar um comportamento similar, porque foi utilizado o sistema descontínuo alimentado, e o xarope (de milho ou cana) foi adicionado em um pulso. No momento onde foi adicionado o xarope, pode ser observado em todas as figuras, que ocorreu a diminuição das concentrações alcoólicas, devido ao efeito de diluição originado pelo volume de xarope que não contém etanol na sua composição.

Ao analisar as figuras também pode ser observado que as cervejas elaboradas utilizando xarope de cana como adjunto, tiveram concentrações alcoólicas superiores a aquelas que utilizaram xarope de milho. Este comportamento é coerente e comum para todas as cervejas produzidas com estes adjuntos. Embora o processo fermentativo tenha sido conduzido com adjuntos diferentes, foram utilizadas as mesmas temperaturas, porém houve diferença que se deve à diferença de fermentabilidade dos adjuntos utilizados onde os xaropes de cana e milho tiveram fermentabilidades de 84,47 % e 70,46 %, respectivamente. Os resultados obtidos são plenamente compreensíveis e esperados, visto que, no xarope de cana toda a concentração de sólidos solúveis, expressos como grau Platô, fundamentalmente expressam os teores de sacarose, glicose e frutose, que

são açúcares totalmente fermentescíveis, enquanto que, o mesmo não acontece com o xarope de milho, que tem uma composição de açúcares fermentescíveis como a glicose, maltose e maltotriose, mais além destes possui outros açúcares de estrutura mais complexa, como a maltotetraose, maltopentaose, maltohexaose, maltoheptaose, maltooctaose e outras dextrinas que segundo Medeiros, et al, (2018) não são fermentescíveis, mais são computadas como açúcares totais em grau Platô, por isto o xarope de milho teve fermentabilidade menor.

Outro comportamento similar em todas as fermentações é a relação entre a proporção de adjunto e a concentração de etanol, quando foram comparadas as cervejas elaboradas com o mesmo adjunto. A medida que aumenta a proporção de adjunto, aumenta a concentração alcoólica das cervejas, o que acontece porque em todas as fermentações se trabalhou com concentrações fixa de 16 °P no mosto de malte e de 65°P para ambos xaropes. Por este motivo, na medida que os mostos contém uma maior proporção de adjunto, precisam de um maior volume de xarope e um menor volume de mosto de malte para chegar a proporção de adjunto desejada, e dessa forma aumenta sua concentração de extrato que ao fermentar obtem um maior teor de etanol no ensaio.

A Figura 13 mostra os perfis das concentrações alcoólicas obtido com as cervejas elaboradas com 37,5 % de adjunto, resultados estes que representam os experimentos conduzidos no ponto central do planejamento experimental e também aos pontos axiais em relação à temperatura de fermentação representados pelos ensaios conduzidos em +1,68 e -1,68, propostos no planejamento experimental. A Figura 14 mostra os resultados obtidos da formação de álcool para aquelas cervejas produzidas com 24,9 e 50,1 % de adjunto, que representam os pontos axiais (+1,68 e -1,68) em relação às proporção de adjunto, na temperatura de fermentação de 12 °C, que representam o ponto central que foi estudado no planejamento experimental.

Ao comparar as Figuras 11, 12, 13 e 14, percebe-se que quando a temperatura de fermentação foi aumentada, o tempo de fermentação diminui, resultado do aumento da atividade metabólica da levedura que faz com que os açúcares sejam fermentados em um período menor de tempo.

As Figuras 15, 16, 17 e 18 apresentam o consumo de extrato das cervejas nas diferentes proporções de malte/adjunto, em diferentes temperaturas.

Figura 15 – Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas com 70/30 % de malte/adjunto, em escala de bancada.

Fonte: Autoria própria.

Figura 16 – Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas com 55/45 % de malte/adjunto, em escala de bancada.

Fonte: Autoria própria.

Figura 17 – Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas com 62,5/37,5 % de malte/adjunto, em escala de bancada.

Fonte: Autoria própria.

Figura 18 – Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas com 24,9 e 50,1 % de adjunto, em escala de bancada.

Fonte: Autoria própria.

Observa-se que ao início em todas as fermentações, os mostos possuíam uma concentração de extrato original ao redor de 16 °P. Em todos os ensaios as

fermentações iniciaram com o mosto puro malte até que o nível de atenuação real dos mostos, baixassem entre 50 e 60 %, momento este em que foi adicionado o xarope. Em todos os experimentos os xaropes com uma concentração de extrato ao redor dos 65 °P, foram adicionados em um único pulso, e nesse momento pode ser observado no perfil de cada ensaio o aumento da concentração de extrato.

A fermentação descontínua alimentada, foi utilizada como processo fermentativo para evitar o possível estresse da levedura devido ao acréscimo da pressão osmótica, no caso, se a adição do xarope fosse feita desde o início do processo de fermentação. Pode-se observar em todas as figuras, que em nenhum dos ensaios, a levedura foi exposta a concentrações de extrato no mosto, superior aos 20 °P. Pode ser observado ainda que, no momento da adição do xarope, em todas as fermentações, quando a condição da fermentação foi com uma proporção menor de adjunto, o aumento da concentração de extrato foi menos perceptivo, devido ao menor volume de xarope que foi adicionado.

Outro destaque ao analisar os ensaios do projeto, são as diferenças das concentrações do extrato final, entre as cervejas elaboradas com xarope de milho e aquelas elaboradas com xarope de cana, quando possuíam a mesmas proporções de adjunto. As cervejas que foram produzidas com o xarope de milho como adjunto, no final da fermentação, possuíram concentrações finais de extrato mais elevada que as cervejas elaboradas com xarope de cana. Este comportamento foi similar em todos os caso. O xarope de cana teve uma maior atenuação limite (84,47 %) enquanto o xarope de milho teve uma atenuação limite inferior (70,46 %), devido às diferenças em suas composições, que já foram explicadas anteriormente.

Na Figura 18, as cervejas obtidas foram fermentadas nas temperaturas de 8,6, e 15,4 °C. Pode-se observar uma diferença importante do tempo do processo, quando diminuiu a temperatura de fermentação. As cervejas elaboradas com xarope de milho levaram uma semana a mais para serem obtidas, quando a fermentação aconteceu a 8,6 °C, enquanto nas cervejas elaboradas com xarope de cana a diferença foi de 6 dias.

5.1.4 Avaliação dos parâmetros fermentativos

Na Tabela 27 são apresentados os resultados da avaliação dos parâmetros fermentativos para as diferentes condições de obtenção das cervejas concentradas.

Para calcular as eficiências do processo fermentativo (equação 6), foram utilizadas as concentrações de extrato em m/v. A transformação da concentração de extrato em graus Plato, expressa em (m/m), para a concentração em (m/v), foi feita utilizando o valor da densidade, valor obtido da Tabela de Goldiner et Klemann (MEDEIROS et al., 2018). Para a estimativa da eficiência de formação de etanol, as concentrações alcoólicas expressas em porcentagem (v/v) também foram transformadas em porcentagem (m/v).

Tabela 27 – Parâmetros fermentativos encontrados na fermentação das diferentes proporções estudadas em escala de bancada.

Ensaios	EO	ER	EL	CAv	CAm	Y _{P/S}	Efp	AR	Eae
M;10°C;30%	22,94	8,43	6,79	9,07	7,16	0,4935	101,97	63,25	89,82
C;10°C;30%	23,84	7,65	6,05	10,12	7,91	0,4935	101,99	67,91	91,01
M;14°C;30%	22,84	7,57	6,76	9,54	7,55	0,4931	101,91	66,86	94,94
C;14°C;30%	23,74	6,93	6,02	10,51	8,3	0,4938	102,04	70,81	94,89
M;10°C;45%	25,53	8,34	7,55	10,78	8,51	0,4956	102,43	67,33	95,61
C;10°C;45%	26,69	7,62	6,21	11,96	9,44	0,4955	102,41	71,45	93,12
M;14°C;45%	25,50	8,47	7,54	10,68	8,43	0,4950	102,30	66,78	94,83
C;14°C;45%	26,50	7,56	6,17	11,88	9,37	0,4952	102,35	71,47	93,15
M;8,6°C;37,5%	24,18	7,95	7,15	9,85	7,77	0,4787	98,93	67,12	95,31
M;15,4°C;37,5%	24,35	7,67	7,20	10,12	7,99	0,4790	98,99	68,50	97,27
M;12°C;24,9%	22,10	6,34	6,54	9,60	7,58	0,4810	99,39	71,31	100,00
M;12°C;50,1%	29,40	11,32	8,69	11,02	8,71	0,4817	99,56	61,50	87,32
C;8,6°C;37,5%	24,05	5,98	5,85	11,02	8,71	0,4820	99,61	75,14	99,28
C;15,4°C;37,5%	24,25	6,52	5,90	10,80	8,5	0,4794	99,07	73,11	96,61
C;12°C;24,9%	23,50	6,47	6,13	10,37	8,19	0,4809	99,38	72,47	98,06
C;12°C;50,1%	29,45	6,37	6,64	14,16	11,18	0,4844	100,10	78,37	100,00
M;12°C;37,5%	24,31	8,24	7,19	9,77	7,71	0,4798	99,15	66,10	93,87
C;12°C;37,5%	24,69	5,51	6,01	11,75	9,28	0,4838	99,99	77,68	100,00

Fonte: Autoria própria.

Nota: EO – Extrato original (kg/hL).

ER – Extrato real final (kg/hL).

EL – Extrato obtido no final da fermentação limite (kg/hL).

CAv – Concentração alcoólica em volume (mL/100 mL).

CAM – Concentração alcoólica em massa/volume (g/100mL).

$Y_{P/S}$ – Fator de conversão de extrato em álcool (g/g).

$Y_{P/SB}$ – Fator de conversão de extrato em etanol, segundo Balling (0,4839g de etanol/g açúcar fermentável).

Efp – Eficiência de formação de produto (%).

AR – Grau de atenuação real do extrato (%).

Eae – Eficiência de atenuação do extrato (%).

A eficácia de um processo fermentativo do mosto para a produção de cerveja, estão fundamentadas em dois aspectos: primeiro na eficiência do fator de conversão de substrato em produto (Efp), neste caso a transformação de extrato em etanol, o que é essencial para obter o nível alcoólico desejado no produto; o segundo e o mais importante, é a eficiência do grau de atenuação do extrato (Eae). Este parâmetro é fundamental, porque se uma cerveja conter uma grande quantidade de açúcares fermentescíveis residuais, a bebida vai ficar com um sabor muito adocicado, além disso, estes açúcares poderão se tornar uma fonte ideal para o desenvolvimento de outros microrganismos, o que provocará uma possível contaminação.

Os fatores de conversão de substrato em produto ($Y_{P/S}$) das fermentações estudadas, ficaram ao redor de 0,4839g de etanol/g de extrato consumido (fator de referência de Balling) (KRISTIANSEN, 2007). Isto, prova que as fermentações conduzidas nos mostos super concentrados tiveram uma boa eficiência de conversão dos açúcares em etanol. Vale destacar que Balling em seus experimentos utilizou mosto puro malte e com concentrações menores, que as utilizadas no presente trabalho.

Com os resultados obtidos, em cada ensaio da concentração original final e da atenuação limite, foram calculados os extratos reais limites. Com estes valores e os consumos de extrato obtidos de cada cerveja fermentada, foi determinada a eficiência de atenuação de extrato.

Nos experimentos conduzidos com M;10°C;30% e M;12°C;50,1%, as eficiências do consumo de extrato foram abaixo de 90 %. Estes resultados demonstraram que o desempenho das fermentações nestes ensaios não foram tão eficientes, podendo ter sido influenciado pela temperatura do processo, no caso da cerveja M;10°C;30%, e pela elevada proporção de adjunto e concentração original, no caso da cerveja M;12°C;50,1%. A cerveja C;10°C;30%, teve uma eficiência ao redor de 90 %, que ainda é um valor baixo.

Carrillo, Carrillo e Martínez (2011) elaboraram cervejas super concentradas utilizando xarope de sacarose como adjuntos. Estes autores escolheram a variante 2 de entre as 5 variantes que testaram com valores de $Y_{P/S}$ de 0,482; 0,487; 0,472; 0,462 e 0,449 g de etanol/g de açúcar fermentável. Ao calcular as eficiências destes ensaios, utilizando o fator de Balling (0,4839) como referência, os autores obtiveram os seguintes valores, 99,61; 100; 97,54; 95,47 e 92,79, respectivamente.

Os resultados obtidos nos ensaios M;10°C;30%; M;12°C;50,1% e C;10°C;30%, comparados com os resultados obtidos por Carrillo, Carrillo e Martínez (2011,) pode-se observar que nossos resultados não foram tão bons. Os resultados das eficiências da atenuação de extrato, destes três ensaios não são considerados bons, já que, as cervejas obtidas, poderiam ter sabor adocicado e ou tornar-se fonte de possível contaminação. Já as eficiências da atenuação do extrato obtida nos outros ensaios realizados na escala de bancada, ficaram acima de 93%, demonstrando em média que a eficiência geral do processo foi boa.

5.1.5 Avaliação das características das cervejas estudadas

A Tabela 28 apresenta a quantidade de água utilizada para a diluição das cervejas concentradas, o volume final obtido e os fatores de diluição estimados.

O volume de água utilizado para as diluições, foram estimados com base no volume de cerveja concentrada obtida e na concentração original total, de cada ensaio. O cálculo da água de diluição foi feito, com o auxílio da equação 3 e utilizando como parâmetro uma cerveja obtida a partir de um mosto com concentração original de extrato de 10 °P (10,38 kg/hL).

Observa-se que quanto maior a proporção de adjunto, maior a quantidade de água a ser adicionada. Por exemplo, as cervejas com 30 % de adjunto tiveram fatores de diluição entre 2,20 e 3,30, e as cervejas com 45 % de adjunto tiveram fatores de diluição entre 2,46 e 2,55. Isto ocorre, porque todas as cervejas foram elaboradas com mostos de puro malte e xaropes que continham concentrações de extrato similares, portanto quanto maior for a proporção de adjunto, maior será o volume de xarope (65 °P) a ser adicionado na preparação do mosto para alcançar a proporção desejada, e aí uma maior concentração total de extrato na cerveja concentrada. Por este motivo, foi necessário utilizar uma maior quantidade de água

para poder diluir a cerveja a uma concentração equivalente, a uma cerveja obtida de um mosto que tivesse uma concentração de extrato original de 10 °P.

Tabela 28 – Fatores de diluição para as cervejas obtidas em escala de bancada.

Ensaio	Cervejas			
	Água (L)	Concentrada (L)	Diluída (L)	fd
M;10°C;30%	3,41	2,82	6,23	2,21
C;10°C;30%	3,62	2,79	6,41	2,30
M;14°C;30%	3,33	2,77	6,10	2,20
C;14°C;30%	3,59	2,79	6,38	2,29
M;10°C;45%	4,09	2,80	6,89	2,46
C;10°C;45%	4,45	2,83	7,28	2,57
M;14°C;45%	4,08	2,80	6,88	2,46
C;14°C;45%	4,36	2,81	7,17	2,55
M;8,6°C;37,5%	3,76	2,83	6,59	2,33
M;15,4°C;37,5%	3,75	2,79	6,54	2,35
M;12°C;24,9%	3,17	2,81	5,98	2,13
M;12°C;50,1%	5,09	2,78	7,87	2,83
C;8,6°C;37,5%	3,69	2,8	6,49	2,32
C;15,4°C;37,5%	3,77	2,82	6,59	2,34
C;12°C;24,9%	3,51	2,78	6,29	2,26
C;12°C;50,1%	5,09	2,77	7,86	2,84
M;12°C;37,5%	3,70	2,76	6,46	2,34
C;12°C;37,5%	3,87	2,81	6,68	2,38

Fonte: Autoria própria.

Nota: fd – Fator de diluição: volume de cerveja diluída por cada volume de cerveja concentrada.

A Tabela 29, apresenta os resultados das análises físico-químicas realizadas nas cervejas concentradas. Foi aplicado o teste de Tukey, com um nível de 5 % de probabilidade, para avaliar a existência de diferenças significativas entre as médias de cada parâmetro analisado.

Observa-se que em todos os ensaios os valores de extrato original estimado para o mosto ficaram acima dos 18 °P, concentração esta que atende as exigências necessárias para que a bebida possa ser classificado como cerveja super concentrada.

Observa-se também, que as concentrações alcoólicas das cervejas obtidas com os mostos concentrados foram entre 9,07 e 14,16 % (v/v) nos ensaios realizados. No final da maturação todas cervejas foram diluídas para uma concentração de extrato original de 10 °P, e assim terem concentrações alcoólicas similares ao das cervejas comerciais tipo Pilsen, encontradas no mercado, com teores alcoólicos entre 4 e 5 % (v/v). Isto, faz com que o emprego desta metodologia de produção de cerveja com o mosto super concentrado, possa aumentar consideravelmente a capacidade de elaboração da planta, o que pode ser comprovado pelos valores dos fatores de diluição apresentados na Tabela 28.

Tabela 29 – Análises físico-químicas das cervejas super concentradas, elaboradas em escala de bancada.

Ensaios	Etanol (v/v)	Extrato Original (°P)	Extrato Real (°P)	Cor (EBC)	pH
M;10°C;30%	9,07 ^{de}	21,12 ^d	8,18 ^a	9,32 ^d	4,22 ^a
C;10°C;30%	10,12 ^{cd}	21,88 ^{cd}	7,44 ^a	25,97 ^c	4,17 ^{ab}
M;14°C;30%	9,54 ^{de}	21,04 ^d	7,37 ^a	9,36 ^d	4,23 ^a
C;14°C;30%	10,50 ^c	21,80 ^{cd}	6,76 ^b	25,98 ^c	4,16 ^{ab}
M;10°C;45%	10,78 ^c	23,30 ^{bc}	8,09 ^a	7,33 ^d	4,20 ^{ab}
C;10°C;45%	11,96 ^b	24,26 ^b	7,42 ^a	33,28 ^b	4,14 ^{ab}
M;14°C;45%	10,60 ^c	23,27 ^b	8,22 ^a	7,49 ^d	4,21 ^a
C;14°C;45%	11,88 ^b	24,10 ^b	7,36 ^a	32,51 ^b	4,21 ^a
M;8,6°C;37,5%	10,18 ^c	22,17 ^{cd}	7,73 ^a	8,33 ^d	4,19 ^{ab}
M;15,4°C;37,5%	10,62 ^c	22,31 ^{cd}	7,46 ^a	8,45 ^d	4,18 ^{ab}
M;12°C;24,9%	9,74 ^c	20,41 ^d	6,2 ^b	9,44 ^d	4,20 ^{ab}
M;12°C;50,1%	12,20 ^b	26,48 ^a	9,26 ^a	7,02 ^e	4,18 ^{ab}
C;8,6°C;37,5%	11,58 ^b	22,35 ^{cd}	5,86 ^c	29,54 ^b	4,14 ^{ab}
C;15,4°C;37,5%	11,67 ^b	22,48 ^{cd}	6,37 ^b	28,48 ^b	4,15 ^{ab}
C;12°C;24,9%	10,37 ^c	21,60 ^d	6,32 ^b	22,39 ^c	4,21 ^{ab}
C;12°C;50,1%	14,16 ^a	26,52 ^a	6,23 ^b	37,05 ^a	4,11 ^b
M;12°C;37,5%	9,91 ^d	22,54 ^{cd}	8,37 ^a	8,32 ^d	4,17 ^{ab}
M;12°C;37,5%	9,57 ^d	22,46 ^{cd}	8,70 ^a	8,65 ^d	4,22 ^a
M;12°C;37,5%	9,84 ^d	21,84 ^d	7,56 ^a	7,91 ^d	4,19 ^{ab}
C;12°C;37,5%	11,44 ^b	22,46 ^{cd}	5,83 ^c	28,99 ^b	4,17 ^{ab}
C;12°C;37,5%	11,72 ^b	22,22 ^{cd}	5,24 ^c	29,34 ^b	4,15 ^{ab}
C;12°C;37,5%	12,10 ^b	22,72 ^{cd}	5,02 ^c	29,38 ^b	4,18 ^{ab}

Fonte: Autoria própria.

Nota: Letras diferentes correspondem a médias estatisticamente diferentes, ao nível de 95% de confiança.

Pode-se observar que os ensaios que usaram o xarope de cana como adjunto, comparando com os ensaios elaborados com xarope de milho na mesma proporção, obtiveram concentrações alcoólicas superiores devido à composição dos açúcares de ambos os adjuntos.

Martínez (2014) quando fermentou a 10 °C em escala piloto cervejas super concentradas utilizando xarope de milho nas proporções de 30 e 45%, obteve concentrações alcoólicas de 9,31 e 11,00 % (v/v). No presente projeto, quando utilizado xarope de milho como adjunto, na proporção de 30 % e nas temperaturas de 10 e 14 °C, foram obtidas concentrações alcoólicas de 9,07 e 9,54 % (v/v), resultados que são similares aos obtidos pelo autor. Ao comparar as cervejas elaboradas com xarope de milho, na proporção de 45 %, foram obtidas concentrações alcoólicas de 10,78 e 10,60 % (v/v), resultados que também são similares aos obtidos pelo autor.

Na indústria do etanol, Joannis-Casan et al., (2014) testaram diferentes metodologias de processos descontínuo alimentados. Ele fermentaram mostos com açúcar de beterraba com concentração de 26,96 °P e obtiveram concentrações alcoólicas que variaram entre 13,4 e 15,4 % (v/v). Também na indústria do etanol, Laopaiboon, Deesuth e Laopaiboon (2016) testaram a aeração em mosto obtido de sorgo sacarino com concentração de açúcares fermentáveis de 25,34 °P. Estes autores obtiveram concentrações alcoólicas de até 16,20 % (v/v). Elaborando cervejas concentradas, Carrillo, Carrillo e Martínez (2011), fermentaram mostos com diferentes concentrações de extrato e com proporção de 50% de sacarose como adjunto. Estes autores obtiveram concentrações alcoólicas de 13,74; 14,36; 14,47; 14,54 e 14,61 % (v/v).

No ensaio C;12°C;50,1%, que foi preparado com mosto com 50,1 % de xarope de cana, o qual teve uma concentração de extrato original de 26,52 °P, resultou depois da fermentação, em uma cerveja com concentração alcoólica de 14,16 % (v/v). Este resultado foram similares a aqueles obtidos por Joannis-Casan et al., (2014), Laopaiboon, Deesuth e Laopaiboon (2016) e Carrillo, Carrillo e Martínez (2011), o que avalia como bons os resultados obtidos neste projeto.

A intensidade de cor para as cervejas produzidas com xarope de cana foram significativamente superiores aos daquelas cervejas elaboradas com xarope de milho. Isto ocorreu porque o xarope de cana contém compostos (produtos da caramelização de açúcares e da reações de Maillard) que proporcionam incremento

da cor ao produto, ao contrário do que acontece quando utilizado o xarope de milho. Nos experimentos preparados com xarope de cana, pode-se observar uma tendência do incremento de cor quanto maior a proporção de adjunto, já que precisam de um volume maior de xarope para cumprir com a proporção.

O pH das cervejas também se manteve nos valores normais e de acordo com aqueles encontrados nas cervejas comerciais (4,10 – 4,40).

A Tabela 30 apresenta alguns dos parâmetros que foram submetidos a análise estatística utilizando a metodologia de superfície de resposta.

Tabela 30 – Parâmetros analisados nas superfícies de respostas.

Ensaio	Tempo de fermentação (dias)	Concentração de etanol (% v/v)	Cor (EBC)	Fator de diluição	Atenuação real (%)
M;10°C;30%	14,00	9,07	9,33	2,21	63,25
C;10°C;30%	13,00	10,12	25,97	2,30	67,91
M;14°C;30%	13,05	9,54	9,36	2,20	66,86
C;14°C;30%	10,98	10,51	25,98	2,29	70,81
M;10°C;45%	18,93	10,78	7,33	2,46	67,33
C;10°C;45%	17,96	11,96	33,28	2,57	71,45
M;14°C;45%	16,92	10,68	7,49	2,46	66,78
C;14°C;45%	10,25	11,88	32,51	2,55	71,47
M;8,6°C;37,5%	22,00	9,85	8,33	2,33	67,12
M;15,4°C;37,5%	15,00	10,12	8,45	2,35	68,50
M;12°C;24,9%	19,00	9,60	9,44	2,13	71,31
M;12°C;50,1%	24,00	11,02	7,02	2,83	61,50
C;8,6°C;37,5%	15,00	11,02	29,54	2,32	75,14
C;15,4°C;37,5%	9,00	10,80	28,48	2,34	73,11
C;12°C;24,9%	13,00	10,37	22,39	2,26	72,47
C;12°C;50,1%	21,00	14,16	37,05	2,84	78,37
M;12°C;37,5%	17,00	9,91	8,81	2,37	62,24
M;12°C;37,5%	17,00	9,52	7,92	2,36	66,64
M;12°C;37,5%	17,00	9,84	8,17	2,30	69,22
C;12°C;37,5%	16,00	11,44	29,07	2,36	74,56
C;12°C;37,5%	16,00	11,72	28,77	2,34	78,76
C;12°C;37,5%	16,00	12,10	29,88	2,39	79,72

Fonte: Autoria própria.

Os fatores avaliados, foram: o tipo de adjunto (fator qualitativo), a temperatura de fermentação (fator quantitativo) e a proporção de adjunto (fator quantitativo). Foram analisados estatisticamente os resultados obtidos das variáveis respostas, como: o tempo de fermentação, a concentração de etanol, a cor, o fator de diluição e a atenuação real. Para avaliar a influência destes fatores sobre as variáveis respostas foram utilizados a tabela de análise de variância e os diagramas de superfície de resposta.

As Tabelas 31, 32, 33, 34 e 35 apresentam as análises de variância para as variáveis respostas: tempo de fermentação, concentração de etanol, cor, fator de diluição e atenuação real. Pode-se observar que os valores do modelo são significativos estatisticamente estão em letras mais escuras ($p < 0,05$).

Tabela 31 – Análise de variância do tempo de fermentação.

Fatores	SQ	GL	QM	F	p
Modelo	221,70	8	27,71	5,26	0,0043
(A) Adjunto	57,96	1	57,96	10,99	0,0056
(B) Temperatura de fermentação	61,88	1	61,88	11,74	0,0045
(C) Proporção de adjunto	63,03	1	63,03	11,96	0,0042
Resíduo	68,54	13	5,27		
Falta de ajuste	68,54	9	7,62		
Erro puro	0,000	4	0,000		
Total	290,24	21			

Fonte: Autoria própria.

Tabela 32 – Análise de variância da concentração de etanol.

Fatores	SQ	GL	QM	F	p
Modelo	25,69	8	3,21	10,72	0,0001
(A) Adjunto	12,02	1	12,02	40,13	< 0,0001
(B) Temperatura de fermentação	0,16	1	0,16	0,54	0,4768
(C) Proporção de adjunto	10,06	1	10,06	33,59	< 0,0001
Resíduo	3,89	13	0,30		
Falta de ajuste	3,59	9	0,40	5,21	0,0634
Erro puro	0,31	4	0,076		
Total	29,58	21			

Fonte: Autoria própria.

Tabela 33 – Análise de variância da Cor.

Fatores	SQ	GL	QM	F	p
Modelo	2592,05	8	324,01	1137,26	< 0,0001
(A) Adjunto	2431,17	1	2431,17	8533,40	< 0,0001
(B) Temperatura de fermentação	0,24	1	0,24	0,84	0,3751
(C) Proporção de adjunto	48,33	1	48,33	169,64	< 0,0001
Resíduo	3,70	13	0,28		
Falta de ajuste	2,62	9	0,29	1,08	0,5104
Erro puro	1,08	4	0,27		
Total	2595,76	21			

Fonte: Autoria própria.

Tabela 34 – Análise de variância do fator de diluição.

Fatores	SQ	GL	QM	F	p
Modelo	0,62	8	0,078	28,29	< 0,0001
(A) Adjunto	0,015	1	0,015	5,58	0,0344
(B) Temperatura de fermentação	5,112E ⁻⁰⁰⁸	1	5,112E ⁻⁰⁰⁸	1,866E ⁻⁰⁰⁵	0,9966
(C) Proporção de adjunto	0,53	1	0,53	193,81	< 0,0001
Resíduo	0,036	13	2,740E ⁻⁰⁰³		
Falta de ajuste	0,031	9	3,498E ⁻⁰⁰³	3,39	0,1262
Erro puro	4,133E ⁻⁰⁰³	4	1,033E ⁻⁰⁰³		
Total	0.66	21			

Fonte: Autoria própria.

Tabela 35 – Análise de variância da atenuação real.

Fatores	SQ	GL	QM	F	p
Modelo	366,94	8	45,87	3,40	0,0246
(A) Adjunto	313,29	1	313,29	23,24	0,0003
(B) Temperatura de fermentação	1,22	1	1,22	0,090	0,7687
(C) Proporção de adjunto	0,14	1	0,14	0,010	0,9210
Resíduo	175,22	13	13,48		
Falta de ajuste	135,25	9	15,03	1,50	0,3680
Erro puro	39,97	4	9,99		
Total	542,16	21			

Fonte: Autoria própria.

Observa-se que para as variáveis respostas, analisadas estatisticamente, os modelos obtidos foram significativos, e a falta de ajuste não significativa o que comprova que os modelos representam corretamente os procedimentos utilizados e servem para estimar qualquer resultado dentro da região de estudo utilizada.

O fator Adjunto (A) foi estatisticamente significativo para as variáveis concentração de etanol, cor, fator de diluição e atenuação real. Isto acontece pelas diferenças entre os dois adjuntos, xarope de cana e xarope milho. O xarope de cana contém em sua composição fundamentalmente sacarose pelo que possui uma fermentabilidade superior ao xarope de milho, por isso uma maior concentração de etanol e uma maior atenuação do extrato, quando este é utilizado. Além disto, como já mencionado anteriormente o xarope de cana contém compostos que incrementam a cor do produto, por isso a diferença na cor da cerveja que quando é utilizado xarope de milho que não possui estes compostos.

O fator Temperatura de fermentação (B) só foi significativo para o tempo de fermentação. Isto acontece devido a que quanto maior é a temperatura de

fermentação maior será a atividade do metabolismo da levedura, o que faz o microrganismo consumir os açúcares fermentáveis do mosto com maior velocidade.

O fator Proporção de adjunto (C) foi significativo para as variáveis respostas tempo de fermentação, concentração de etanol, cor e fator de diluição. Como já explicado anteriormente, no projeto se trabalhou com concentrações fixas de extratos no mosto puro malte e nos dois xaropes utilizados. Quando o ensaio contém uma proporção superior de adjunto, precisa de um volume menor de mosto de malte (16 °P) e um volume maior de xarope ($\cong$ 65 °P), o que faz que sua concentração original seja superior às de ensaios com proporções de adjuntos inferiores. Com maior concentração de extrato original, o ensaio vai demorar mais tempo no processo de fermentação, vai conter uma concentração alcoólica superior produto de maior concentração de açúcares para fermentar, o fator de diluição, para diluir a uma cerveja de 10 °P, vai ser superior. Por outra parte o efeito sobre a cor, foi responsabilidade do xarope de cana, que possui compostos que acentuam a cor da cerveja e quanto maior proporção este efeito é aumentado.

As Figuras 19, 20, 21 e 22 apresentam as superfícies de respostas, tanto do xarope de milho como do xarope de cana, para o efeito da combinação da temperatura de fermentação e a proporção de adjunto sobre as variáveis respostas, tempo de fermentação, concentração de etanol, cor e fator de diluição, respetivamente.

Ao comparar as Figuras 19a e 19b, pode-se observar que o perfil das superfícies foi similar, com a diferença de que, quando foi utilizado o xarope de cana, o tempo de fermentação foi menor, daquele quando foi utilizado o xarope de milho. Pode-se observar que, quando utilizado qualquer dos dois adjuntos, o tempo de fermentação diminuiu nas proporções de adjunto menores e nas temperaturas de fermentação mais elevadas. Este comportamento do modelo é coerente devido a que a maior temperatura o metabolismo da levedura é mais ativo e consegue consumir os açúcares em menor tempo e além, entretanto é menor a proporção de adjunto, menor concentração de açúcares para fermentar.

Figura 19 – Superfície de resposta para o tempo de fermentação, quando avaliado o efeito da combinação da temperatura de fermentação e a proporção de adjunto.

Fonte: Autoria própria.

a: Ensaio com xarope de milho.

b: Ensaio com xarope de cana.

Figura 20 – Superfície de resposta para a concentração de etanol, quando avaliado o efeito da combinação da temperatura de fermentação e a proporção de adjunto.

Fonte: Autoria própria.

a: Ensaio com xarope de milho.

b: Ensaio com xarope de cana.

Ao comparar as Figuras 20a e 20b, pode-se observar que o perfil das superfícies foram similares, com a diferença de que quando foi utilizado o xarope

de cana, as cervejas tiveram concentrações alcoólicas superiores que as obtidas com xarope de milho. Pode-se observar que, quando utilizado qualquer dos dois adjuntos, a concentração alcoólica foi superior na medida que aumentou a proporção de adjunto, o que é coerente devido ao fato de que, quando se utiliza uma proporção maior de adjunto, deve-se adicionar um volume maior de xarope, o que faz com que aumente a concentração de extrato original do mosto e de etanol da cerveja, depois do processo de fermentação.

Figura 21 – Superfície de resposta para a cor, quando avaliado o efeito da combinação da temperatura de fermentação e a proporção de adjunto.

Fonte: Autoria própria.

a: Ensaio com xarope de milho.

b: Ensaio com xarope de cana.

Ao comparar as Figuras 21a e 21b, pode-se observar que o perfil das superfícies foram diferentes quando foi utilizado o xarope de cana e o xarope de milho. Ao comparar as cervejas elaboradas com xarope de cana e as elaboradas com xarope de milho, pode-se observar uma diferença marcante da intensidade de cor. Esse comportamento do modelo é esperado porque, como já explicado, o xarope de cana possui compostos que acentuam a cor deste, e consequentemente a cor da cerveja.

A influência da proporção de adjunto sobre a intensidade da cor, foi diferente para os dois adjuntos utilizados. Quando utilizado o xarope de cana, na medida que

aumenta a proporção de adjunto, aumenta a intensidade da cor, já, quando utilizado o xarope de milho, a intensidade da cor diminui, o que acontece por o milho proporcionar menor intensidade de cor que o mosto de malte. Quando aumenta a proporção de adjunto, aumenta o volume de xarope de milho (menor intensidade de cor) e diminui o volume do mosto de malte (maior intensidade), de aí a menor intensidade da cor na cerveja obtida.

Figura 22 – Superfície de resposta para o fator de diluição, quando avaliado o efeito da combinação da temperatura de fermentação e a proporção de adjunto.

a

b

Fonte: Autoria própria.

a: Ensaio com xarope de milho.

b: Ensaio com xarope de cana.

Ao comparar as Figuras 22a e 22b, pode-se observar que, para o fator diluição, o perfil das superfícies foram similares tanto quando foi utilizado o xarope de cana, como quando se utilizou o xarope de milho. Isto ocorreu porque os ensaios realizados para ambos os adjuntos, tiveram concentrações de extrato original similares. Também, pode-se observar, na Figura 22, que o fator de diluição aumentou na medida que aumentou a proporções de adjunto. Esse comportamento do modelo é coerente porque, como já explicado, quando se deseja trabalhar com elevadas proporções de adjunto, deve-se adicionar um maior volume de xarope, aumentando a concentração de extrato original da bebida, a que depois foi diluída para uma concentração fixa de extrato original (10 °P) em todos os ensaios.

5.1.6 Avaliação sensorial das cervejas estudadas em escala de bancada

A Tabela 36 apresenta os resultados da análise sensorial das cervejas, diluídas, elaboradas na escala de bancada.

Tabela 36 – Resultados da análise sensorial das cervejas elaboradas em escala de bancada.

Atributos Ensaio	Impressão Global	Cor	Aroma	Sabor	Aparência	Intenção de compra
M;10°C;30%	6,24 ^b	6,82 ^b	5,70 ^b	5,55 ^c	6,94 ^b	3,00 ^c
C;10°C;30%	7,01 ^{ab}	7,51 ^a	6,33 ^{ab}	6,62 ^b	7,37 ^a	3,61 ^b
M;14°C;30%	6,57 ^b	6,64 ^b	6,02 ^b	6,04 ^b	6,98 ^b	3,27 ^c
C;14°C;30%	6,27 ^b	6,70 ^b	5,86 ^b	5,86 ^c	6,84 ^b	3,20 ^c
M;10°C;45%	5,88 ^c	7,11 ^a	5,86 ^b	4,99 ^d	6,78 ^b	2,72 ^d
C;10°C;45%	6,38 ^b	7,25 ^a	6,20 ^b	5,50 ^c	7,10 ^a	3,16 ^c
M;14°C;45%	7,25 ^a	7,54 ^a	6,54 ^a	6,66 ^b	7,52 ^a	3,69 ^b
C;14°C;45%	6,81 ^{ab}	6,60 ^b	6,36 ^a	6,49 ^b	6,86 ^b	3,51 ^b
M;8,6°C;37,5%	6,23 ^b	5,79 ^c	6,39 ^a	6,38 ^b	6,22 ^c	3,36 ^b
M;15,4°C;37,5%	6,24 ^b	5,74 ^c	6,28 ^a	6,24 ^b	6,17 ^c	3,28 ^b
M;12°C;24,9%	7,08 ^{ab}	6,98 ^b	6,62 ^a	7,04 ^a	7,17 ^a	3,95 ^a
M;12°C;50,1%	6,65 ^b	5,84 ^c	6,38 ^a	6,75 ^a	6,44 ^c	3,67 ^b
C;8,6°C;37,5%	6,95 ^{ab}	7,50 ^a	6,56 ^a	6,38 ^b	7,27 ^a	3,61 ^b
C;15,4°C;37,5%	7,36 ^a	7,71 ^a	6,85 ^a	7,05 ^a	7,57 ^a	3,94 ^a
C;12°C;24,9%	6,51 ^b	7,14 ^a	6,33 ^{ab}	5,85 ^c	7,02 ^a	3,28 ^c
C;12°C;50,1%	6,33 ^b	7,21 ^a	6,17 ^b	5,69 ^c	6,83 ^b	3,11 ^c
M;12°C;37,5%	6,51 ^b	5,97 ^c	6,21 ^{ab}	6,50 ^b	6,47 ^b	3,46 ^b
C;12°C;37,5%	6,39 ^b	7,37 ^a	6,12 ^b	5,78 ^c	6,91 ^b	3,19 ^c

Fonte: Autoria própria.

Nota: Letras diferentes correspondem a médias estatisticamente diferentes, ao nível de 95% de confiança.

Foi aplicado o teste de Tukey, com um nível de 5 % de probabilidade, para avaliar a existência de diferença significativa entre as médias, dos ensaios realizados em duplicatas para cada atributo analisado.

Os atributos como a impressão global, o aroma, o sabor, a aparência e a intenção de compra; poderiam ser afetados pela interação dos adjuntos e pelas proporções utilizadas. Os provadores ao analisar sensorialmente as cervejas obtidas, nas diferentes condições estudadas, preferiram a aquela obtida com o

mosto C;15,4°C;37,5%, como que pode ser visto na tabela. Observa-se que a cerveja, elaborada com xarope de cana, na temperatura de 15,4 °C e com 37,5 % de adjunto, obteve a média estatística máxima em todos os atributos avaliados.

A análise sensorial foi fundamental para a escolha do ensaio de elaboração do mosto para a cerveja a ser produzida na escala piloto. Embora, ao analisar alguns parâmetros como fator de diluição, concentração de etanol e tempo de fermentação, estes são vantajosos para o processo cervejeiro, a decisão final foi produzir em escala piloto aquela cerveja preferida sensorialmente, colocando uma maior importância aos resultados da análise sensorial.

5.2 Resultados das cervejas elaboradas em escala piloto

Na escala piloto foram elaboradas, a cerveja escolhida na escala de bancada cuja condição de elaboração do mosto foi a C;15,4°C;37,5% e uma cerveja padrão, elaborada com 37,5 % de xarope de cana, fermentada a 15,4 °C, porém com uma concentração de extrato original ao redor de 10 °P. Estes resultados foram comparados com aqueles obtidos com a cerveja escolhida na escala de bancada.

5.2.1 Características dos mostos na escala piloto

A Tabela 37 apresenta as condições de preparação dos mostos, as concentrações de extrato original, a atenuação atingida e a massa de levedura utilizada para o inóculo na escala de bancada e na escala piloto.

Tabela 37 – Condições para a fermentação do mosto para a cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas experimental e padrão, elaboradas em escala piloto.

Parâmetro	VT	V mosto	V de	Extrato	Extrato	Atenuação	Massa de	Massa
Ensaio	(L)	(L)	xarope a 65 °P (L)	original (°P)	original (Kg/hL)	limite (%)	açúç ferm (g)	de levedura (g)
Cerveja bancada	3	2,681	0,319	22,28	24,31	75,68	551,90	65,45
Cerveja piloto	100	89,30	10,70	22,28	24,31	75,68	18397,80	2181,98
Cerveja padrão	100	100	–	10,00	10,38	71,55	7426,90	880,83

Fonte: Autoria própria.

Observa-se que as concentrações dos extratos original nos dois mostos concentrados, independentemente da escala, ficaram acima dos 18 °P, concentração esta que por definição, classifica a metodologia como cervejas elaboradas a partir de mostos super concentrados. As massas de leveduras utilizadas tanto para o mosto padrão, quanto para o mosto concentrado foram bem superiores na escala piloto, devido aos volumes de mosto que foram fermentados.

5.2.2 Avaliação da concentração do nitrogênio amínico livre (FAN) nos mostos

A Tabela 38 apresenta a comparação entre a concentração de FAN e sua comparação em relação aos açúcares fermentescíveis.

Tabela 38 – Composição da concentração de FAN no mosto para a cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.

Parâmetro		Extrato Original (Kg/hL)	Açúcar Fermentável (mg/L)	FAN (mg/L)	Açúcar Fermentável/ FAN	Açúcar Fermentável/ FAN/350
Prova						
Cerveja bancada	I	16,71	117638,50	483,91	243,10	0,69
	T	24,25	183514,90	432,62	424,20	1,21
Cerveja piloto	I	16,51	116230,40	487,33	238,50	0,68
	T	24,47	185179,80	435,67	425,00	1,21
Cerveja padrão	I	10,28	73553,40	153,25	480,00	1,37
	T	–	–	–	–	–

Fonte: Autoria própria.

Na tabela foram apresentados os dados da concentração de extrato original e da concentração de FAN, do início da fermentação e os valores totais estimados depois de colocado o adjunto nos mostos concentrados. Os dados são referentes à cerveja escolhida em escala de bancada e em escala piloto, além do mosto padrão elaborado em escala piloto. As concentrações de FAN nos mostos, foram comparadas com a proporção ideal de 350 açúcares fermentescíveis/FAN.

Vale ressaltar que os mostos tiveram no início uma concentração de FAN elevada. Isto ocorreu porque as fermentações começaram com um mosto de puro malte e, além disso, foi utilizada a enzima papaína, que provavelmente contribuiu para o aumentar o potencial de hidrólises das proteínas do malte. Já no mosto

padrão, que já continha o xarope de cana em sua composição, teve uma concentração menor de FAN. Estes dados comprovaram a efetividade do uso da enzima papaína, para aumentar a concentração de FAN, nos mostos cervejeiros.

5.2.3 Avaliação dos parâmetros fermentativo

A Figura 23 apresenta o perfil de formação de etanol, para as cervejas produzidas com a proporção de 62,5/37,5 % de malte/xarope de cana, fermentadas na temperatura de 15,4 °C.

Figura 23 – Formação de etanol nas fermentações para as cervejas elaboradas com a condição C;15,4°C;37,5%.

Fonte: Autoria própria.

Pode-se observar que as cervejas produzidas com os mostos concentrados alcançaram concentrações alcoólica similares, em torno de 11 % (v/v), independente da escala de fermentação utilizada. Isto implica em utilizar um fator de diluição acima de dois, para obter uma cerveja diluída com concentração alcoólica similar às cervejas mais comuns do mercado. O valor da concentração de alcoólica da cerveja padrão foi menos da metade do valor das concentradas, o que

lógico já que esta cerveja começou a fermentar com uma concentração original de 9,91 °P.

Ao comparar o tempo de fermentação do processo para obtenção das cervejas concentradas, observa-se um período menor de fermentação na escala piloto do que aquele que foi necessário para a escala de bancada. Este efeito pode ter sido ocasionado pelo tipo de fermentador.

A Figuras 24 apresenta o perfil de consumo de substratos, para as cervejas produzidas com o mosto concentrado nas proporções de 62,5/37,5 % de malte/xarope de cana e com o mosto padrão.

Figura 24 – Consumo de substrato nas fermentações para as cervejas elaboradas com a condição C;15,4°C;37,5%.

Fonte: Autoria própria.

Observa-se que os mostos concentrados iniciaram a fermentação com uma concentração de extrato de 16 °P. Os experimentos começaram o processo com mostos puro malte até que a atenuação real chegasse a valores entre 50 e 60 %, momento este em que foi adicionado o xarope. O xarope foi adicionado de uma única vez, com concentração ao redor de 65 °P, e nesse ponto do gráfico, houve aumento das concentrações de extrato nos mostos.

O mosto padrão foi fermentado pela metodologia descontínua, na que o mosto entrou no reator já com concentração original ao redor de 10 °P e com a proporção de xarope de cana, desejada na formulação.

5.2.4 Cálculos dos parâmetros fermentativos

Na Tabela 39 são apresentados os resultados dos parâmetros cinéticos das fermentações utilizadas para a obtenção das cervejas elaboradas na escala piloto e da cerveja escolhida na escala de bancada. Para fazer os cálculos dos diferentes parâmetros foi utilizado o mesmo procedimento para os cálculos das fermentações conduzidas em escala de bancada.

Tabela 39 – Parâmetros cinéticos encontrados nas fermentações da cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.

Ensaio	EO (kg/hL)	ER (kg/hL)	EL (kg/hL)	CAv (% v/v)	CAm (% m/v)	$Y_{P/S}$	Efp (%)	AR (%)	Eaa (%)
Cerveja bancada	24,25	6,52	5,90	10,80	8,50	0,4794	99,07	73,11	96,61
Cerveja piloto	24,47	6,11	5,95	11,22	8,86	0,4826	99,73	75,03	99,15
Cerveja padrão	9,91	2,85	2,92	4,68	3,69	0,4966	100,00	72,28	100,00

Fonte: Autoria própria.

Nota: Ctm – Concentração total de extrato (kg/hL).

Cfm – Concentração final de extrato (kg/hL).

CIm – Concentração limite final de extrato (kg/hL).

CAv – Concentração alcoólica em volume (mL/100 mL).

CAm – Concentração alcoólica em massa/volume (g/100mL).

$Y_{P/S}$ – Fator de conversão de extrato em álcool (g/g).

$Y_{P/SB}$ – Fator teórico de conversão de extrato em álcool, segundo Balling (0,4839g de etanol/g açúcar fermentável).

Efp – Eficiência de formação de produto (%).

ATr – Grau de atenuação real do extrato (%).

Eaa – Eficiência de atenuação de açúcares (%).

Conforme já mencionado anteriormente, mais vale a pena ressaltar aqui, a eficiência de fermentação de um mosto para a produção de cerveja, depende da conversão de substrato em produto ($Y_{P/S}$), neste caso a transformação de extrato em etanol, o que é essencial para obter o nível alcoólico desejado no produto; e também do nível de atenuação do extrato. Este parâmetro é fundamental, porque uma cerveja que contenha uma grande quantidade de açúcares fermentescíveis residuais vai ter um sabor muito adocicado, e além disso, estes açúcares vão se

tornar uma fonte ideal para o futuro desenvolvimento de outros microrganismos, o que provocará uma possível contaminação. Na Tabela 39, pode-se observar, que para as três condições de fermentação a eficiência de conversão de substrato em produto foram superiores a 99 % e o grau de atenuação do mosto, superiores a 95% resultados estes considerado muito bons, que confirmam a eficácia da tecnologia desenvolvida e sua possível aplicação no futuro.

5.2.5 Avaliação das características físico-químicas das cervejas estudadas

A Tabela 40 mostra os resultados dos volumes de água utilizados, para as diluições das cervejas concentradas obtidas das fermentações conduzidas nas duas escalas, e seus respectivos fatores de diluição.

Tabela 40 – Fatores de diluição para a cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.

Ensaio	Água (L)	Cervejas		fd
		Concentrada (L)	Diluída (L)	
Cerveja bancada	3,77	2,82	6,59	2,34
Cerveja piloto	122,40	90,00	212,40	2,35
Cerveja padrão	100,00	–	100,00	1

Fonte: Autoria própria.

O volume de água foi calculado utilizando os dados do volume de cerveja concentrada e a concentração original total do mosto alcançado em cada fermentação. A diluição foi feita, baseada na obtenção de uma cerveja diluída estimada a partir de um mosto com concentração original de extrato de 10 °P (10,38 kg/hL). Pode-se observar que os fatores de diluição, das cervejas concentradas, foram similares. Isto ocorreu por se tratarem de cervejas elaboradas nas mesmas condições, cuja única diferença é que foram fermentadas em escalas diferentes.

A cerveja padrão, que não foi obtida pela metodologia de mostos super concentrados, foi preparada a partir de mosto elaborado com concentração de extrato original de 10 °P, pelo que não teve que ser submetida a diluição.

A Tabela 41 mostra os resultados das análises físico-químicas realizadas nas cervejas elaboradas com o mosto C;15,4°C;37,5%.

Tabela 41 – Análises físico-químicas da cerveja escolhida na escala de bancada e as cervejas elaboradas em escala piloto.

Ensaio	Etanol (v/v)	Extrato Original (°P)	Extrato Real (°P)	Extrato Aparente (°P)	Cor (EBC)	pH
Cerveja bancada	10,80	22,23	6,37	2,88	28,48	4,15
Cerveja piloto	11,22	22,41	5,98	2,36	27,45	4,17
Cerveja padrão	4,68	9,91	2,82	1,25	11,44	4,14

Fonte: Autoria própria.

Pode-se observar que as cervejas concentradas, elaboradas nas duas escalas, tiveram concentrações originais estimadas acima de 18 °P, o que as qualifica como cervejas obtidas a partir de mostos super concentrados. Já a cerveja padrão, que só foi elaborada em escala piloto, teve concentração de extrato original ao redor dos 10 °P.

Quando comparados os resultados das concentrações de etanol, de extrato original, real e aparente e também a intensidade de cor, os valores obtidos para as cervejas concentradas foram bem superiores aqueles encontrados na cerveja feita com o mosto padrão, porém o pH, manteve-se no mesmo nível para todos os ensaios.

5.2.6 Avaliação sensorial das cervejas estudadas na escala de bancada

A Tabela 42 mostra os resultados da análise sensorial das cervejas elaboradas na escala piloto, a cerveja escolhida na escala de bancada e uma cerveja comercial tipo *Pilsen*. A análise de variância mostrou que existe diferença estatística significativas entre as amostras ao nível de 5 % de significância, o que foi definido com a aplicação do teste de Tukey, nas médias dos dados obtidos em cada atributo sensorial avaliado.

Observa-se que pela impressão global, a cerveja obtida com o mosto concentrado tanto na escala de bancada, quanto na escala piloto, teve uma melhor avaliação que a cerveja obtida com o mosto padrão, e todas estas produzidas no laboratório, foram melhores avaliadas que a amostra comercial. O mesmo ocorreu quanto a intensidade de cor em que a cerveja comercial foi menos preferida que as cervejas produzidas na pesquisa. Quanto ao sabor, a cervejas obtidas com os

mostos concentrados foram melhores avaliadas (bancada e piloto) que a cerveja produzida com o mosto padrão e a cerveja comercial. No atributo aparência, a cerveja comercial recebeu uma avaliação pior que as cervejas produzidas no projeto. Quanto ao atributo intenção de compra, as cervejas obtidas com o mostos concentrados (bancada e piloto) tiveram maior preferência que a cerveja padrão e a cerveja comercial.

Estes resultados avaliam eficientemente as cervejas obtidas pela tecnologia desenvolvida neste projeto, e que não foi detectado perda da qualidade do produto.

Tabela 42 – Resultados da análise sensorial da cerveja escolhida na escala de bancada, uma cerveja de origem comercial e as elaboradas cervejas em escala piloto.

Atributos/Cerveja	Cerveja Bancada	Cerveja Piloto	Cerveja Comercial	Cerveja Padrão
Impressão Global	7,36 ^a	6,91 ^{ab}	6,16 ^c	6,47 ^b
Cor	7,71 ^a	7,56 ^a	5,80 ^b	7,40 ^a
Aroma	6,85 ^a	6,47 ^{ab}	5,87 ^c	6,00 ^b
Sabor	7,05 ^a	6,56 ^{ab}	6,09 ^b	6,04 ^b
Aparência	7,57 ^a	7,27 ^{ab}	6,29 ^c	7,02 ^b
Intenção de Compra	3,94 ^a	3,82 ^a	3,47 ^b	3,47 ^b

Fonte: Autoria própria.

Nota: Letras diferentes correspondem a médias estatisticamente diferentes, ao nível de 95% de confiança.

5.2.7 Avaliação da poupança energética, econômica e benefícios ao meio ambiente do processo desenvolvido

A Tabela 43 apresenta um estudo da economia de energia térmica e elétrica que oferece esta tecnologia de produção de cervejas super concentradas quando comparada com o processo tradicional ou denominada nesta pesquisa como padrão. Estes cálculos foram feitos conforme metodologia de Martínez (2014) e podem ser vistos nos apêndices D, E, F e G.

Os resultados energéticos obtidos com a produção da cerveja concentrada, foram estimados considerando o volume final da produção, ou seja, depois da cerveja ser diluída 2,35 vezes. Observa-se que embora a cerveja concentrada utilize energia no processamento do xarope, etapa que não foi desenvolvida na obtenção da cerveja padrão, o consumo energético é em geral inferior,

proporcionando importantes resultados de economia de energia térmica e elétrica quando utilizada a tecnologia de produção de cerveja com mostos concentrados.

Tabela 43 – Resultados da análise da poupança de energia térmica e elétrica para as cervejas elaboradas em escala piloto.

Consumos	Cervejas		
	Padrão	Concentrada	Diferença
Energia térmica			
Mosturação (kcal/hL)	1507,7	1512,3	– 4,6
Aquecimento do mosto (kcal/hL)	2297,9	231,8	2066,1
Fervura do mosto (kcal/hL)	4851,0	1834,9	3016,1
Aquecimento do xarope (kcal/hL)	–	206,3	– 206,3
Fervura do xarope (kcal/hL)	–	36,7	– 36,7
Total de energia térmica (kcal/hL)	8656,6	3821,9	4834,7
Economia de energia térmica (%)	–	–	55,85
Óleo combustível (kg)	0,88	0,39	0,49
Energia elétrica (kw-h/hL)	3,21	1,28	1,93

Fonte: Autoria própria.

A Tabela 44 apresenta uma estimativa da análise econômica considerando os gastos com combustíveis e de energia elétrica para o processo fermentativo de produção de cerveja.

Tabela 44 – Estimativa da análise econômica do processo de produção de cerveja.

Fonte de energia	Unidade	Preço	Cerveja M;15,4°C;37,5%	
			Δ Energia	Δ Econômica
Óleo combustível	Kg	1,45	0,49	0,71
Energia elétrica	Kw-h	0,329	1,93	0,64
Poupança econômica	R\$	–	–	1,35

Fonte: Autoria própria.

De acordo com este balanço energético proposto por Martínez (2014), o emprego desta tecnologia de produção de cerveja super concentrada, pode proporcionar uma economia de até R\$ 1,35 por cada hectolitro de cerveja produzida, se comparado com a tecnologia do processo tradicional que utiliza mostos com concentração original em torno de 10 °P.

Uma das vantagens da tecnologias que utiliza mostos concentrados, é o efeito positivo que proporciona ao meio ambiente. A tecnologia de cerveja obtida a partir de mostos super concentrados, diminui em parte a emissão de CO₂ à

atmosfera. Nas grandes cervejarias a maior parte do CO_2 formado durante fermentação primária é recuperado, armazenado e comprimido para posterior uso em diferentes etapas do processo cervejeiro. Mesmo na indústria cervejeira, no início do processo de recuperação do CO_2 , parte deste gás é liberado à atmosfera, contido numa mistura de CO_2 e ar que ocupa o espaço vazio entre o volume útil do fermentador e a parte superior deste, no início do processo fermentativo. O emprego desta tecnologia, por utilizar um volume bem menor de mosto no início da fermentação, irá emitir uma quantidade de CO_2 bem inferior, a aquela que seria emitida ao meio ambiente pelo processo tradicional. Com a tecnologia de produção tradicional o ar contido no espaço superior do reator, teria que ser retirado 2,35 vezes, entretanto no caso da cerveja concentrada seria liberado apenas uma vez. Além disso, de acordo com Almeida e Silva (2010), a cevada é uma planta cuja respiração é do ciclo C3 que consome muito pouco CO_2 , enquanto que os adjuntos utilizados neste projeto, são de matérias-primas, como milho e cana de açúcar, que respiram pelo ciclo C4 e conseqüentemente, em seu cultivo, irão consumir muito mais CO_2 que a cevada, o que irá proporcionar grandes benefícios ao meio ambiente.

Outro benefício que é necessário ao meio ambiente é a diminuição da emissão de gases de efeito estufa. Portanto, além do CO_2 deixado de emitir na fermentação, a economia de energia térmica e elétrica proporcionada pelo uso da tecnologia de produção de cerveja concentrada, também irá contribuir para alcançar este objetivo.

Conforme Barros (2009) para produzir 1GJ de energia originado do petróleo se produz 73,3 kg de CO_2 , 0,003 kg de CH_4 e 0,00006 kg de NO_2 . Segundo Kunze (1999) $1\text{kw-h} = 3,6\text{ MJ} = 860\text{ kcal}$.

Com as informações oferecidas por estes autores e os dados dos cálculos da energia deixada de consumir com a aplicação da tecnologia de produção de cerveja concentrada, na Tabela 45, são apresentados os valores das massas destes gases de efeito estufa, que seriam deixados de emitir ao meio ambiente.

Tabela 45 – Massa de gases de efeito estufa que podem deixar de se emitir ao meio ambiente com a aplicação da tecnologia de cerveja concentrada.

Cerveja	Óleo diesel/hL			Energia elétrica/hL		
	CO ₂ (kg)	CH ₄ (kg)	N ₂ O (kg)	CO ₂ (kg)	CH ₄ (kg)	NO ₂ (kg)
Concentrada	1,18	5×10^{-5}	$9,59 \times 10^{-7}$	0,34	$1,4 \times 10^{-5}$	$2,76 \times 10^{-7}$
Padrão	2,68	$1,1 \times 10^{-4}$	$2,17 \times 10^{-6}$	0,86	$3,5 \times 10^{-5}$	$2,93 \times 10^{-7}$
Diferença	1,50	6×10^{-5}	$1,21 \times 10^{-6}$	0,52	$2,1 \times 10^{-5}$	$0,17 \times 10^{-7}$

Fonte: Autoria própria.

6 CONCLUSÕES

A avaliação do processo de elaboração de cerveja a partir de mostos super concentrados utilizando o xarope de milho e o xarope de cana como adjuntos, com diferentes proporções de malte/adjunto e diferentes temperaturas de fermentação, demonstraram que o processo é viável sob o ponto de vista tecnológico e econômico;

Os fatores de conversão de substrato em produto ($Y_{P/S}$) das fermentações estudadas, ficaram ao redor de 0,4839 g de etanol/g de extrato consumido (fator de referência de Balling), o que demonstrou que os ensaios tiveram uma boa eficiência de transformação dos açúcares em etanol. Já as eficiências da atenuação do extrato obtida nos experimentos ficaram acima de 93%, exceto para os três ensaios obtidos com os mostos M;10°C;30%, o C10°C;30%, e o M;12°C;50,1%, demonstrando em média que a eficiência geral do processo foi boa;

As cervejas elaboradas na escala de bancada foram submetidas a análise sensorial obtendo bons resultados. A cerveja melhor avaliada foi a obtida com a formulação do mosto preparado nas seguintes condições: com xarope de cana, fermentada à temperatura de 15,4 °C, e com 37,5 % de adjunto (C;15,4°C;37,5%);

A formulação C;15,4°C;37,5% foi reproduzida em escala piloto, juntamente com uma cerveja com um mosto padrão de 10 °P, de extrato original. Estas cervejas foram caracterizadas e comparadas entre si, e ficou demonstrando as vantagens de se obter uma maior concentração alcoólica por utilizar o fator de diluição da cerveja concentrada, e assim poder aumentar o volume de produção quando comparada com a cerveja padrão;

Foram analisados alguns parâmetros, energéticos, econômicos e de efeito ao meio ambiente, para as cervejas em escala piloto. A cerveja concentrada demonstrou benefícios quando comparada com a cerveja padrão, resultando numa economia de 0,49 kg de óleo combustível e 1,93 kw-h de energia elétrica por cada hectolitro de mosto elaborado. Com estes resultados foi possível estimar uma economia de R\$ 1,35, por cada hectolitro de cerveja produzida, além de obter importantes benefícios ambientais.

7 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Os resultados obtidos permitem estabelecer algumas estratégias para desenvolver futuramente outros trabalhos, como por exemplo:

Otimizar o processo na escala piloto, procurando uma possível aplicação na escala industrial;

Explorar o potencial de outras leveduras cervejeiras para sua utilização na fermentação de mostos concentrados;

Avaliar o potencial de outras enzimas α -amilases termoestáveis e proteolíticas com o intuito de utiliza-las para a obtenção de mostos super concentrados, aplicando a metodologia desenvolvida no projeto;

Explorar o potencial de novos adjuntos concentrados, por exemplo sucos concentrados de frutas, que poderiam oferecer cervejas com características organolépticas diferentes e com vantagens, como por exemplo, obter um mosto mais nutritivo.

REFERENCIAS

ABREU, J; GUZMÁN, T. M; COBO, H; CARRILLO, R. Caracterización de las cepas de levadura en uso en las cervecerías. **Ciencia y Tecnología de los Alimentos**, v. 14, n. 3, p. 5 – 12, 2004.

AIZEMBERG, R. **Emprego de caldo de cana e do melado como adjunto de malte de cevada na produção de cerveja**. 2015. 163 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo (EEL-USP), Lorena. 2015.

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

ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO W. G. **Tecnologia de bebidas**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p. 347 – 378.

ALMEIDA, R. A; ALMEIDA e SILVA, J. B. Scenery of craft and large beer in Brazil and Europe: Historic, market and trends. **European International Journal of Science and Technology**. v. 6, n. 7, p. 36 – 47, 2017. Disponível em: http://www.eijst.org.uk/images/frontImages/gallery/Vol._6_No._7/4.36-47.pdf. Acesso em: 3 mar. 2018.

ALVARENGA, D. Consumo de cerveja deve recuar pelo 3º ano seguido em 2017, mas faturamento do setor cresce. **Portal G1**. 2017. Disponível em: <https://g1.globo.com/economia/noticia/consumo-de-cerveja-deve-recuar-pelo-3-ano-seguido-em-2017-mas-faturamento-do-setor-cresce.ghtml>. Acesso em: 13 mar. 2018.

AMERICAS' BEVERAGE COMPANY (AMBEV): **Relatório Anual 2012**. Disponível em: http://www.ambev.com.br/media/3939214/ra_ambev_2012.pdf. Acesso em: 14 fev. 2013.

----- **Relatório Anual 2016**. Disponível em: https://www.ambev.com.br/conteudo/uploads/2017/05/Ambev_Relat%C3%B3rio_Sustentabilidade_2016.pdf. Acesso em: 17 fev. 2018.

ANDERSON, R. G. History of Industrial Brewing. In: STEWART, G. G; RUSSELL, I; ANSTRUTHER, A. **Handbook of Brewing**. 3th Ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC. 2018 p. 2 .

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITARIA (ANVISA). Resolução RDC nº 271. Regulamento técnico para açúcares e produtos para adoçar. 2005. Disponível em: <https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjE5NQ%2C%2C>. Acesso em: 5 abr. 2018.

AKADA, R. Genetically modified industrial yeast ready for application. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 94, n. 6, p. 536 – 544, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138917230280192X>. Acesso em: 1 maio. 2018.

ARAUJO, F. B; SILVA, P. H. A; MINIM, V. P. R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 23, n. 2, p. 121 – 128, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v23n2/v23n2a04.pdf>. Acesso em: 8 mar. 2014.

AVESUKAREE, C; DAMNERNSAWAD, A; KRUATRICHUE, M; POKETHTIYOOK, P; BOONCHIRD, C; KANEKO, Y; HARASHIMA, S. Genome – Wide identification of genes involved in tolerance to various environmental stresses in *saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Applied Genetics**. v. 50, n. 3, p. 301 – 310, 2009. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2F03195688?LI=true#page-1>. Acesso em: 20 mar. 2013.

BACK, W. Microbiology. In: EBLINGER, H. M. **Handbook of brewing**: Processes, technology, markets. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2009. p. 479 – 480.

BAJOMO, M.F; YOUNG, T.W. Development of a mashing profile for the use of microbial enzymes in brewing with raw sorghum (80%) and malted barley or sorghum malt (20%). **Journal of The Institute of Brewing**. v. 98, n. 6, p. 515 – 523, 1992. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.2050-0416.1992.tb01138.x/abstract#>. Acesso em: 7 fev. de 2014.

BAKER, J. **CRAFT BEER.COM**. Craft Beer in 2017: New Report Offers Fresh Numbers. 2017. Disponível em: <https://www.craftbeer.com/editors-picks/brewers-association-2017-year-end-report-us-breweries>. Acesso em: Março de 2018.

BALCEREK, M; PIELECH-PRZYBYLSKA, K; STRĄK, E; PATELSKI, P; DZIEKOŃSKA, U. Comparison of fermentation results and quality of the agricultural distillates obtained by application of commercial amylolytic preparations and cereal malts. **Eur. Food Res. Technol.** v. 24, n. 2, p. 321 – 335, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00217-015-2542-7.pdf>. Acesso em: 10 mar. de 2018.

BAMFORTH, C. W. Progress in Brewing Science and Beer Production. **Annual Reviews**. v. 8, n. 1, p. 161 – 176, 2017. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-chembioeng-060816-101450>. Acesso em: Março de 2018.

BARBOSA, R. M. **Contribuição do mercado de carbono para a viabilidade de projetos de eficiência energética térmica e de troca de combustíveis em cervejarias**. 2010. 121 p. Dissertação (Mestre em energia). Instituto de Energia e Ambiente da Universidade de São Paulo (USP) SP. 2010.

BARNES, Z. C. Brewing process control. In: PRIEST, F. G; STEWART, G. S. **Handbook of brewing**. 2ª Ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC. 2006. p. 449.

BARROS, L. H; RODRIGUES, B. J; URQUIAGA, S; BODDEY, R. M. **EMBRAPA**. Mitigação das emissões de gases de efeito estufa pelo uso de etanol da cana-de-açúcar produzido no Brasil. 2009. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/630482/1/cit027.pdf>. Acesso em: 8 mar. 2014.

BARTH, H. J., KLINKE, C; SCHMIDT, C. **The hop atlas**. The history and geography of the cultivated plant. Nuremberg: Alemanha. 1994. p. 383. Disponível em: <https://catalog.hathitrust.org/Search/Home?lookfor=%22%20Hops%20History.%22&type=subject&inst=>. Acesso em: 11 abr. 2018.

BASAŘOVÁ, G; ČEPIČKA, J. **Sladařství a pivovarství**: skriptum. Praha: VŠCHT SNTL, 1985.

BAYROCK E INGLEDEW. Application of multistage continuous fermentation for production of fuel alcohol by very-high-gravity fermentation technology. **J. Ind. Microbiol. Biotechnol.** v. 27, n. 2, p. 87 – 93, 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11641766>. Acesso em: 5 nov. 2015.

BEER ART - PORTAL DA CERVEJA. Mapa da Cerveja no Brasil apresenta novidades. 2018. Disponível em: <http://revistabeerart.com/news/cervejarias-brasil>. Acesso em: 3 mar. 2018.

BEDINI, S; FLAMINI, G; GIRARDI, J; COSCI, F; CONTI, B. Not just for beer: evaluation of spent hops (*Humulus lupulus* L.) as a source of eco-friendly repellents for insect pests of stored foods. **Journal of Pest Science**. v. 88, n. 1, p. 583 – 592, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10340-015-0647-1.pdf>. Acesso em: 3 mar. 2018.

BOULTON, C. Fermentation of beer. In: BAMFORTH, C. W. **Brewing: New Technologies**. Boca Raton, FL: Woodhead Publishing Limited. 2006. p. 231.

BRADEE, L; DUENSING, W; HELSTAD, S; KLIMOVITZ, R; LAIDLAW, A. Adjuntos. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3ª Ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas, 2002. p. 87 – 114.

BRAGANÇA, M.G.L. **EMBRAPA**. Processamento artesanal da cana-de-açúcar. Informe Agropecuário. 2007. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=507105&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22BRAGAN%C3%A7a,%20M%22&qFacets=autoria:%22BRAGAN%C3%A7a,%20M%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>. Acesso em: 4 abr. 2018.

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: 9 fev. 2011.

BRETSCHGER, L. Greening Economy, Graying Society. **MPRA**. 2015. Disponível em: <https://mpra.ub.uni-muenchen.de/66218/>. Acesso em: 12 mar. 2018.

BREWERS ASSOCIATION. Beer Style Guidelines – 2017. 2017. Disponível em: <https://s3-us-west-2.amazonaws.com/brewersassoc/wp-content/uploads/2017/05/2017-BA-Beer-Style-Guidelines.pdf>. Acesso: Março de 2018.

BRIGGS, E. D.; BOULTON, C.A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. **Brewing science and practice**. Boca Raton FL: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, 2004. p. 50, 51, 59, 101, 243.

CÂNDIDO, E. **Estudo de viabilidade econômica de produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de palha de cevada**. 2008. 48 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia industrial). - Escola de Engenharia de Lorena. Universidade de São Paulo. Lorena. 2008.

CARRILLO, R. D. **Desarrollo de un proceso de elaboración de cerveza concentrada**. 2009. p. 92. Monografia (Graduação de engenharia química). Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría (ISPJAE). Habana. 2009.

CARRILLO, R.D; CARRILLO, R; MARTÍNEZ, O. Eficiencia en la fermentación de mosto para cerveza de súper alta densidad. **Ciencia y Tecnología de los Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 65 – 68, 2011.

CARRILLO, R; LOPEZ, N. Pilot evaluation of use of papain in malt mashing. v. 1, n. 273, p. 93 – 95, 1996. **Alimentaria**. Disponível em: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=3108852>. Acesso em: 7 fev. 2014.

CASEY. G. P ; MAGNUS. C. A ; INGLEDEW. W. M. High gravity brewing : Nutrient enhanced production of high concentrations of ethanol by brewing yeast. **Biotechnology Letters**. v. 5, n. 6, p. 429 – 434. 1983. Disponível em : <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBBF00131286#page-2>. Acesso em : 1 Nov. 2015.

CASTRO, F. M. **Estudio de los residuos industriales líquidos y evaluación de las alternativas de mejoras para la industria cervecera valdivia**. 2003. p. 18. Monografia (Graduação de engenharia em alimentos). Instituto de Ciencia e Tecnologia dos Alimentos Franklin Mauricio Castro Aravena. Valdivia, Chile. 2003.

CAVALCANTI, C. **SARAIVA**. Meio ambiente, desenvolvimento sustentável e políticas públicas. 1999. Disponível em : <https://www.saraiva.com.br/meio-ambiente-desenvolvimento-sustentavel-e-politicas-publicas-405576.html>. Acesso em : 5 nov. 2015.

CEREDA, M. P. Cervejas. In: AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. p. 45 – 78.

CERVESIA. Estudo do mapa sobre o mercado cervejeiro no Brasil. 2017. Disponível em: <https://www.cervesia.com.br/artigos-tecnicos/dados-estatisticos/5073-estudo-do-mapa-sobre-o-mercado-cervejeiro-no-brasil.html>. Acesso em: 27 fev. 2018.

CERVEZA DE ARGENTINA. Tenor amargo en La cerveza. 2013. Disponível em: <http://www.cervezadeargentina.com.ar/articulos/Tenor%20amargo%20en%20la%20cerveza.html>. Acesso em: 25 mar. 2013.

CHEN, T. R. X. The Application of Novo Termamyl in Brewing. **CNKI Journal**. 1993. Disponível em: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZJGD199302010.htm. Acesso em: 3 mar. de 2014.

CHERRY, J. R; FIDANTSEF, A. L. Directed evolution of industrial enzymes: an update. **ScienceDirect**. v. 14, n. 4, p. 438 – 443. 2003. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166903000995>. Acesso em: 20 fev. 2014.

COMPARINI, A; PASSOS, G; GRAZIADEI, H; FERREIRA-SILVA, P. H; LOUZADA, F. **Metodologia de superfície de resposta: uma introdução nos softwares de estatística**. Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo. São Carlos – SP. 2012. Disponível em: http://repositorio.icmc.usp.br/bitstream/handle/RIICMC/6666/Relat%C3%B3rios%20T%C3%A9cnicos%20_376_2012.pdf?sequence=1. Acesso em: 3 fev. 2018.

COUTINHO, C. A. T. A história da cerveja no Brasil. **CERVESIA**. 2017. Disponível em: <https://www.cervesia.com.br/artigos-tecnicos/cerveja/historia-da-cerveja/2-a-historia-da-cerveja-no-brasil.html>. Acesso em: 27 fev. 2018.

DAVIES. M. R; DICKERSSON, SMITH. J. B. The Practical Application of Freeze Concentration to Beer Production. In: INTERNATIONAL CONGRESS (EBC). 1987. Madrid. p. 650 – 653, 1987.

DEÁK, T. **Handbook of food spoilage yeasts**. 2ª Ed. Boca Raton, Florida: CRC Press Taylor & Francis, 2008. p. 43 – 47, 131 – 132.

DEVANTIER, R; PEDERSEN, S; OLSSON, L. Characterization of very high gravity ethanol fermentation of corn mash. Effect of glucoamylase dosage, pre-saccharification and yeast strain. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 68, n. 1, p. 622 – 629, 2005.

DOWHANICK, T.M. Levadura – cepas y técnicas de manejo. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3rd ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas, 2002. p. 298.

DRAGONE, G; ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Edgard Blücher, 2010. p. 15 – 50.

EARLE, R.L. **Ingeniería de los alimentos**. Las operaciones básicas aplicadas a la tecnología de alimentos. Zaragoza: ACRIBIA. Quito, 1968. p. 332.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION (EBC). Analytical EBC. Nurembergue: Fahner Druck GmbH. 2005.

EßLINGER, H. M. Fermentation, maturation and storage. In: EßLINGER, H. M. **Handbook of brewing: processes, technology, markets**: Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2009. 207 – 224.

EIKER, J. Servicios de Ingeniería. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3rd ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas, 2002. p. 519 – 552.

ZONA CEREALISTA. Melado de cana Caseiro e Natural. 2018. Disponível em: <https://zonacerealista.com.br/melado-de-cana-caseiro-e-natural-500g.html>. Acesso em: 13 ago. 2018.

ERNANDES, J. B; BARBOSA, H. S; SILVEIRA, E. A; MIRANDA Jr, M. Efficient very-high-gravity fermentation of sugarcane molasses by industrial yeast strains. **Institute of Brewing & Distilling**. v. 122, n. 1, p. 329 – 333, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jib.317>. Acesso em: 7 mar. 2018.

FAGUNDES, A. **Características Nutricionais com Ênfase no Ferro e Capacidade Antioxidante de Melados Produzidos em Santa Catarina**. 2010. 95 p. Dissertação (Mestrado em nutrição). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2010.

FEBRES, A. **Curso Superior de Empresas Agropecuarias**. Principios de economía. 1975. Disponível em: http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=UKlgAQAAIAAJ&oi=fnd&pg=PT10&dq=principios+de+economia&ots=1QqkXyb89x&sig=_15we2kJwd0pOGWEFBADz5o6gdQ#v=onepage&q=principios%20de%20economia&f=false. Acesso em: 21 fev. 2014.

FILOMENO, L. **MANUAL DO HOMEM MODERNO (MHM)**. Ranking dos países que mais bebem cerveja. Disponível em: <http://manualdohomemmoderno.com.br/cerveja/ranking-dos-paises-que-mais-bebem-cerveja>. Acesso em: 8 Nov. 2015.

FINK, C; MAUTHNER, F; HUBMANN, M; BRUNNER, C. Manufacture of malt and beer with low temperature solar process heat. **Energy Procedia**. V. 48, n. 1, p. 1188 – 1193, 2014. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S1876610214003968/1-s2.0-S1876610214003968-main.pdf?_tid=bf92ba5b-eca9-41fa-b2f2-44a6bf468c4e&acdnat=1522259399_2cffdfeaf14f798a7c4d2eacbee5bf97. Acesso em: 5 mar. 2018.

FIGUEIREDO, D. **EXTRA-GLOBO**. Cerveja brasileira tem 45% de milho no lugar da cevada, aponta estudo. 2015. Disponível em: <https://extra.globo.com/noticias/economia/cerveja-brasileira-tem-45-de-milho-no-lugar-da-cevada-aponta-estudo-12306727.html>. Acesso em: 5 mar. 2018.

FONTANA, I. B; PETERSON, M; CECHINEL, M. A. P. Application of brewing waste as biosorbent for the removal of metallic ions present in groundwater and surface waters from coal regions. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. v. 6, n. 1, p. 660 – 670, 2018. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S2213343718300058/1-s2.0-S2213343718300058-main.pdf?_tid=8078c36a-bedd-47af-b49b-ea18d1ca9e78&acdnat=1520854572_ed321691dfcd21e9b58432e1b73c2a83. Acesso: Março de 2018.

FREEMAN, P.L. Cebada y malteado. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3^{ed} ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas, 2002.

GALLEGO, A. G. **Sistemas de Refrigeração a partir da Cogeração - Análise e simulação de propostas para o caso de cervejarias utilizando gás natural**. 1998. 99 p. Dissertação (Mestrado Engenharia de Produção) – Universidad Metodista de Piracicaba, Piracicaba. 1998.

GHOSH, N; MUKHOPADHYAY, P; SHAH, A; PANDA, M. Nature, Economy and Society: Understanding the Linkages. **J Agric Environ Ethics**. v. 31, n. 1, p. 405 – 407, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10806-018-9735-6.pdf>. Acesso em: 13 ago. 2018.

GOBATO, G.; KOLAS, G.A.; MARCHI, J.F.; MURAKAMI, J.L.G. **Cultivo e transformação da cana-de-açúcar**. 2^a ed. Paraná: EMATER. 2003.

GONZÁLES, F. J. T; ZAPATA, J. A. N; LÓPEZ, V. E. V; CORONA, C. P. L. Ethanol tolerance is decreased by fructose in *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeast. **LWT - Food Science and Technology**. v. 67, n. 1, p. 1 – 7, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815303169>. Acesso em: 1 maio. 2018.

GUIMARÃES, P. M. R; LONDESBOROUGH, J. The adenylate energy charge and specific fermentation rate of brewer's yeasts fermenting high and very high-gravity worts. **Wiley InterScience**. v. 25, n. 1, p. 47 – 58, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/yea.1556>. Acesso em: 8 mar. 2018.

GRANT, H. L. Lúpulo. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3rd ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas, 2002.

HARRISON, M. A; SCHAECHTER, M. **Encyclopedia of Microbiology**. San Diego: Elsevier, 2009. 28 p.

HAWKING. P. J. High gravity brewing. **Brewer's guardian may**. 1975. 46 – 47 p.

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

HERB, D; FILICHKIN, T; FISK, S; HELGERSON, L; HAYES, P. Malt Modification and Its Effects on the Contributions of Barley Genotype to Beer Flavor. **J. Am. Soc. Brew. Chem.** v. 75, n. 4, p. 354 – 362, 2017. Disponível em: https://ueaeprints.uea.ac.uk/64483/4/Published_manuscript.pdf. Acesso em: 13 mar. 2018.

HINRICHS, R.A; KLEINBACH, M; DOS REIS, L. B. **Energia e meio ambiente**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning Edições Ltda. 2011.

HOMAEI, A. A; H. SAJEDIE, R. H; SARIRI, R; SEYFZADE, S; STEVANATO, R. Cysteine enhances activity and stability of immobilized papain. **Amino Acids**. V. 38, n. 3, p. 937 – 942, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00726-009-0302-3.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2018.

HOMAEI, A. A; SARIRI, R; VIANELLO, F; STEVANATO, R. Enzyme immobilization: an update. **Journal of Chemical Biology**. V. 6, n. 4, p. 185 – 205, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs12154-013-0102-9.pdf>. Acesso em: 21 mar.2018.

HORNSEY, I. S. **A history of beer and brewing**. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2003. p. 1 – 8.

HORNSEY, I. S. **Brewing**. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 1999. p. 58.

HUDSON, J.R. The rationalization of hop utilization—a review. **J. Inst. Brew**, v. 71, p. 482, 1965.

INGLEDEW, W. M; CASEY, G. P; MAGNUS, C. A. AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. High-gravity brewing: effects of nutrition on yeast composition, fermentative ability, and alcohol production. **Applied and environmental microbiology**. V. 48, No 3, p. 639 – 646, 1984. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC241579/pdf/aem00154-0187.pdf>. Acesso em: 5 Jan. 2013.

INGLEDEW, M; KOLOTHUMANNIL, C; THOMAS, W. Fuel alcohol production: effects of free amino nitrogen on fermentation of very-high-gravity wheat mashes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 7, p. 2046 – 2050, july, 1990. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC184558/pdf/aem00088-0074.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2013.

JOANNIS-CASAN, C; RIESS, J; JOLIBERT, F; TAILLANDIER, P. Optimization of very high gravity fermentation process for ethanol production from industrial sugar beet syrup. **Biomass and Bioenergy** 70, p. 165 – 173. Ago, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953414003699>.

JONES, A. M; INGLEDEW, W. M. Fuel alcohol production: Assessment of selected commercial proteases for very high gravity brewing wheat mash fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**. V. 16, n. 8, p. 683 – 687, 1994a. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0141022994900906>. Acesso em: 9 nov. 2015.

JONES, A. M; INGLEDEW, W. M. Fuel alcohol production: Optimization of Temperature for Efficient Very-High-Gravity Fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 60, n. 3, p. 1048 – 1051, 1994b. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC201434/>. Acesso em: 21 mar. 2018.

JONES, H. L; MARGARITIS, A; STEWART, R. J. The combined effects of oxygen supply strategy, inoculum size and temperature profile on very-high-gravity beer fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **J. Inst. Brew.** v. 113, n. 12, p. 168 – 184, 2007. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.2050-0416.2007.tb00274.x/epdf>. Acesso em: 13 mar.2018.

KEILBACH, J. **Handbook of brewing: processes, technology, markets:** Environmental protection. Weinheim: WILEY-VCH. 2009. p. 665 – 664.

KHONGSAY, N; LAOPAIBOON, L; JAISIL, P; LAOPAIBOON, P. Optimization of Agitation and Aeration for Very High Gravity Ethanol Fermentation from Sweet Sorghum Juice by *Saccharomyces cerevisiae* Using an Orthogonal Array Design. **Energies**. v. 5, n. 1, p. 561 – 576, 2012. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/0a64/658dd547fde08b06a9de2a3c84d5fcc96ec7.pdf>. Acesso em: 5 mar. 2018.

KNUDSEN, F. B. Fermentación, principios y prácticas. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3rd ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas. 2002.

KORDIALIK-BOGACKA, E; BOGDAN, P. Alternatives to malt in brewing. **Trends in Food Science & Technology**. v. 65, n. 1, p. 1 – 9, 2017. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S0924224416300930/1-s2.0-S0924224416300930-main.pdf?_tid=d60e842e-5658-48c8-8896-0c69757b4a01&acdnat=1520879002_6102b0301e29a2540844b84bb4116f10. Acesso em: 10 mar. 2018.

KRISTIANSEN, A. G. **Den skandinaviske bryggerhøjskole**. The Scandinavian School of Brewing, Scandinavian, 2007.

KROTTENTHALER, M. Hops. In: EBLINGER, H. M. **Handbook of brewing: Processes, technology, markets**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2009.

KROTTENTHALER, M; BACK, W; ZARNKOW, M; EBLINGER, H. M. Wort Production. In: EBLINGER, H. M. **Handbook of brewing: Processes, technology, markets**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2009.

KROTTENTHALER, M; GLAS, K. Brew Water. In: EBLINGER, H. M. **Handbook of brewing: Processes, technology, markets**: Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2009.

KUBULE, A; ZOGLA, L; IKAUNIEKS, J; ROSA, M. Highlights on energy efficiency improvements: a case of a small brewery. **Journal of Cleaner Production**. v. 138, n. 2, p. 275 – 286, 2016. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S0959652616300440/1-s2.0-S0959652616300440-main.pdf?_tid=17d2f162-1640-49ca-9ae8-469ab0267c11&acdnat=1522258813_6ca6e50d21a7ce3ec677bf01237d36ad. Acesso em: 21 mar. 2018.

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. 2nd ed. Berlin: VLB, 1999. p. 85, 160 – 162, 435.

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. 3rd ed. Berlin: VLB, 2004. p. 230 – 231, 511.

LAOPAIBOON, L; DEESUTH, O; LAOPAIBOON, P. High ethanol production under optimal aeration conditions and yeast composition in veru high gravity fermentation from sweet sorghum juice by *Saccharomyces cerevisiae*. **Industrial Crops and Products**. V. 92, p. 263 – 270. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669016304915>.

LARSON, J. W. **Handbook of brewing: Brewery Fffluents, Emissions, and Sustainability**. 3rd ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC. 2018. p. 724 - 749. Edited by Priest, F. G; Stewart, G.G; RUSSELL, I; ANSTRUTHER, A.

LEI, H; XU, H; FENG, L; YU, Z; ZHAO, H; ZHAO, M. Fermentation performance of lager yeast in high gravity beer fermentations with different sugar supplementations. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. v. 122, n. 5, p. 583 – 588. 2016. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S1389172316300962/1-s2.0-S1389172316300962-main.pdf?_tid=035e55d9-34e3-4825-97c9-56a116ef6eb2&acdnat=1521553169_bb573e1cb95bd0955b0f432dab9ab42f. Acesso em: 5 mar. 2018.

LEWIS, M. J. Y BAMFOSTH, C. W. **Essays in brewing science**. California: Springer Science, 2006.

UNITED STATES PATENT OFFICE (USPO). LIMONA, H; YOMO, H. **Stabilizing beer**. US3512988, 19 maio. 1970. Disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/96/d8/bb/285b227b7ba8af/US3512988.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2014.

MADIGAN, M. T; MARTINKO, J. M; DUNLAP, P. V; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock**: nutrição, cultura e metabolismo de micro-organismo. 12^a ed. Porto Alegre: Artimed, 2010. 108, 113 p.

MARTÍNEZ, O. **Obtenção de cerveja super concentrada com a utilização de xarope de milho como adjunto de malte**. 2014. 145 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial). Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo (EEL-USP). Lorena, SP. 2014.

MARTÍNEZ, O; CARRILLO, R; VILLAVICENCIO FERRER, M; CARRILLO, R.D. Utilización de etanol como sustituto de azúcares fermentables en la elaboración de cervezas. **Ciencia y Tecnología de los Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 31 – 34, 2011.

MEDEIROS, M.B., AIZEMBERG, R., SILVA, T.A.O, ALMEIDA e SILVA, J.B. **Produção de cerveja**. In: Ribeiro. D. Microbiologia Industrial. v.2. Rio de Janeiro. Ed. Elsevier, 2018.

MEILGAARD, M. Composición del mosto. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3rd ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas, 2002.

MEUSSDOERFFER, F. G; ZARNKOW, M; EBLINGER, H. M. Starchy raw materials. In: EBLINGER, H. M. **Handbook of brewing**: processes, technology, markets. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009.

MITTER, W; COCUZZA, S. Use of Isomerized Hop Extract as a Replacement for Conventional Hop Extract and Its Influence on Beer Flavor. **Master Brewers Association of the Americas**. v. 46, p. 1 – 4, 2009. Disponível em: <http://www.hopsteiner.de/fileadmin/redeakteur/pdf/neuigkeiten-berichte/technische-veroeffentlichungen/useofisomerizedhopextract.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2013.

MONTGOMERY, D. C. **Diseño y Análisis de Experimentos**. 2^{da} ed. México, DF: EDITORIAL LIMUSA, S.A. de C.V, 2004. p 1, 170.

MÜLLER, C; METHNER, F. J. An accelerated malting procedure – influences on malt quality and cost savings by reduced energy consumption and malting losses. **Institute of Brewing and Distilling**. V. 121, n. 1, p. 181 – 192. 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jib.225>. Acesso em: Março de 2018.

MUSTER-SLAWITSH, B; WEISS, W; SCHNITZER, H; BRUNNER, C. The green brewery concept – Energy efficiency and the use of renewable energy sources in breweries. **Applied Thermal Engineering**. v. 31, n. 13, p. 2123 – 2134. 2011. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S1359431111001657/1-s2.0-S1359431111001657-main.pdf?_tid=8e811489-78fd-40c8-b9b9-cc7dcf20ccaa&acdnat=1522258933_f01de2af6fe8bb24d3a84f0b1b5f65bb. Acesso em: 22 mar. 2018.

NEJAT, P; JOMEHZADEHA, F; TAHERIB, M. M; GOHARI, M; MAJID, M. Z. A. A global review of energy consumption, CO2 emissions and policy in the residential sector (with an overview of the top ten CO2 emitting countries). **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 43, n. 1, p. 843 – 862. 2015. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S1364032114010053/1-s2.0-S1364032114010053-main.pdf?_tid=9e9462fa-a255-4589-8b99-30e394dd99ae&acdnat=1522258000_93c725888df4107b4cbb92da415d8288. Acesso em: 12 mar. 2018.

NELSON, D. L; COX, M.M. **Princípios de bioquímica de Lehninger: Enzimas**. 5^{ta} Ed. São Paulo: ARTMED® EDITORA S.A, 2011. p 183 – 185.

NOGUEIRA, F. S; FERREIRA, K. S; CARNEIRO JUNIOR, J.S; PASSONI, L.S. Minerais em melados e em caldos de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 29, n. 4, p. 727 – 731, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n4/05.pdf>. Acesso em: 9 nov. 2015.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E A ALIMENTAÇÃO (FAO): Alpha-Amylase from *Bacillus Licheniformis* containing a genetically engineered alpha-amylase gene from *B. Licheniformis* (Thermostable). 2004. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/61/alphaamylase.pdf>. Acesso em: 3 fev 2014.

O'ROURKE, T. Mash separation systems. **The Brewer International**, v.3, n 2, p. 57 – 59, 2003.

PALMER, G. H. **Handbook of brewing: Barley and malt**. 2^a Ed. Weinheim: WILEY-VCH. 2009. p. 139 – 141.

PALMER, G. H. **Handbook of brewing: Barley and Malt**. 3th ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC. 2018. p. 107. Edited by Priest, F. G; Stewart, G.G; RUSSELL, I; ANSTRUTHER, A.

PALMER, A.K; RENNIE, H. Hops in brewing. **J. Inst.Brew**. v. 80, p. 48, 1974.

PARKER, D. Sensory Evaluation of Beer. In: STEWART, G. G; RUSSELL, I; ANSTRUTHER, A. **Handbook of brewing**. 3rd ed. Taylor & Francis Group, LLC. 2018.

PHAM T.N.L; DOAN N.H.D; LE V.V.M. **Using fed-batch fermentation in very high gravity brewing: effects of tween 80 and ergosterol supplementation on fermentation performance of immobilized yeast in calcium alginate gel.** Ho Chi Minh: Department of Food Technology, Ho Chi Minh City University of Technology, 2008.

PROCOPIO, S; SPRUNG, P; BECKER, T. Effect of amino acid supply on the transcription of flavour-related genes and aroma compound production during lager yeast fermentation. **LWT – Food Science and Technology**. v. 63, n. 1, p. 289 – 297, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815001474?via%3Dihub>. Acesso em: 8 mar. 2018.

PULIGUNDIA, P; SMOGROVACOVA, D; OBULAM, V. S; KO, S. Very high gravity ethanolic brewing and fermentation: a research update: **J. Ind. Microbiol. Biotechnol**, v. 38, n. 9, p. 1133 – 1134, 2011.

RAJI, O. H; ONILUDE, A. A; OLORODE, O. O. Influence of Some Process Parameters on Defined Characteristics of Sorghum Beer during Very High Gravity Fermentation. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**. v. 9, n. 2, p. 51 – 57, 2014. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/9717/d0888bb7e79971fdbd5815416f5b36b90277.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2018.

ROBERTS, T. R; FALCONER, R. **Handbook of brewing: Hops**. 3th ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC. 2018. 148 p. Edited by Priest, F. G; Stewart, G.G; RUSSELL, I; ANSTRUTHER, A.

RUSSELL, I. **Handbook of brewing: Yeast**. 3rd Ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC. 2018. 244 – 246 p.

SALAZAR, M. B. **Demanda de energia na indústria brasileira: efeitos da eficiência energética**. 2012. 95 p. Tese (Doutorado em Economia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2012.

SANCHEZ, G. W. Agua. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3rd ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas, 2002. p. 37 – 60.

SCHÖNBERGER; KOSTELECKY. 125th Anniversary Review: The Role of Hops in Brewing. **J. Inst. Brew.** v. 117, n. 3, p. 259 – 267. 2011. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.2050-0416.2011.tb00471.x/epdf>. Acesso em: 13 mar. 2018.

SCHU, G. Energy. In: EBLINGER, H. M. **Handbook of brewing: Processes, Technology, Markets**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2009. p. 643 – 663.

SHAUS. O. O. **Brewing with high gravity wort**. Tec. Quartely: MBAA. p. 7 – 8, 1971.

SIGMA – ALDRICH. DSM. Termamyl 120L, Type L. 2014. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/a3403?lang=pt®ion=BR>. Acesso em: 10 fev. 2014.

SIMPSON, M. J. Brewing control systems: sensory evaluation. In: BAMFORTH, C. W. **Brewing: New technologies**. Cambridge: Woodhead, 2006. p. 372–387.

SINGH, R; KUMAR, M; MITTAL, A; MEHTA, P.K. Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. **3 Biotech**. V. 6, n. 2, p. 174, 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4991975/>. Acesso em: 2 mar. 2018.

SMITH, D.C. **International Environmental Law and Policy for the 21st Century**. Energy and the Environmental. 2013. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=aiwSBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=history+of+international+environmental+treaties&ots=f0YKrJMVgh&sig=NTkrgZXHO4mBU96qP_s_HSwZkQQ#v=onepage&q=history%20of%20international%20environmental%20treaties&f=false. Acesso em: 17 mar. 2018.

SOUZA, P. M; MAGALHÃES, P.O. Application of microbial -amylase in industry – A review. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 41, p. 850 – 861, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v41n4/04.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2018.

STEWART, G. **Brewing Materials and Processes: A Practical Approach to Beer Excellence**. Adjuncts. London: Elsevier. 2016. Edited by Bamforth, C. W. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=52OdBgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=adjuncts+in+brewing&ots=t-5ZdbH6bX&sig=p38lYOouzwmp07fs6bDPzjpmhWE#v=onepage&q=adjuncts%20in%20brewing&f=false>. Acesso em: 22 mar. 2018.

STEWART, G. G. **Handbook of brewing: Adjuncts**. 2ª ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC. 2006. 170 p. Edited by Priest, F. G; Stewart, G.G.

STEWART, G. G. **Handbook of brewing: Lean Manufacturing Including High Gravity Brewing**. 3ª ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC. 2018. 277 - 278 p. Edited by Priest, F. G; Stewart, G.G; RUSSELL, I; ANSTRUTHER, A.

TAO, X; ZHENG, D; LIU, T; WANG, P; ZHAO, W; ZHU, M; JIANG, X; ZHAO, Y; WU, X. A novel strategy to construct yeast *saccharomyces cerevisiae* strains for very high gravity fermentation. **Plos One**. 2012. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0031235>. Acesso em: 5 fev. 2014.

TAYLOR, D. G. **Handbook of brewing: Water**. 3ª ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC. 2018. p. 70. Edited by Priest, F. G; Stewart, G.G; RUSSELL, I; ANSTRUTHER, A.

TAYLOR, B; ORGAN, G. **Handbook of brewing: Processes, Technology, Markets: Sensory Evaluation**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2009. p. 675. Edited by Eßlinger, H. M.

TROMMER, M. W. **Avaliação do processo produtivo da cerveja com abordagem do ciclo de vida**. 2014. 83 p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Produção). Faculdade de Engenharia, Arquitetura e Urbanismo da Universidade Metodista de Piracicaba (UNIMEP). Santa Bárbara D'oeste. 2014.

VERBELEN, P.J; DEPRAETERE, S. A; WINDERICKX, DELVAUX, F. R; DELVAUX, F. The influence of yeast oxygenation prior to brewery fermentation on yeast metabolism and the oxidative stress response. **Fems yeast research**. v. 9, n. 2, p. 226 – 239, 2009. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsyr/article/9/2/226/568736>. Acesso em: 21 mar. 2018.

WIKIPÉDIA. **Papaína**. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Papa%C3%ADna>. Acesso em: 13 Fev. 2014.

WHITAKER, J. R. New and future uses of enzymes in food processing. **Food Biotechnology**. v. 4, n. 2, p. 669 – 697. 2009. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/089054390009549782#.UvkMQfldUno>. Acesso em: 12 fev. 2014.

YU, Z; ZHAO, H; LI, H; ZHANG, Q; LEI, H, ZHAO, M. Selection of *Saccharomyces pastorianus* variants with improved fermentation performance under very high gravity wort conditions. **Biotechnology Letters**. v. 34, n. 2, p. 365 – 360. 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10529-011-0780-8.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2018.

ZAMAN, K; MOEMEN, M. A. Energy consumption, carbon dioxide emissions and economic development: Evaluating alternative and plausible environmental hypothesis for sustainable growth. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 74, n. 1, p. 1119 – 1130. 2017. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S1364032117303027/1-s2.0-S1364032117303027-main.pdf?_tid=fb90c70a-3abd-4ac6-8f7c-78293b4fb6e3&acdnat=1522258276_07e7c9d1c9bb8269493adb470063479c. Acesso em: 5 mar. 2018.

ZHAO, M; LEI, H; XU, H; FENG, L; YU, Z; ZHAO, H. Effect of worts treated with proteases on the assimilation of free amino acids and fermentation performance of Lager yeast. **International Journal of Food Microbiology**. v. 161, n. 1, p. 73 – 83. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23279816>. Acesso em: 5 mar. 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Ficha da análise sensorial

Nome: _____ Data: _____

Por favor, avalie a amostra codificada da esquerda para a direita e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou da mesma.

Código da amostra: _____	
9 – gostei extremamente	Notas: _____
8 – gostei muito	Impressão global: _____
7 – gostei moderadamente	Cor: _____
6 – gostei ligeiramente	Aroma: _____
5 – nem gostei / nem desgostei	Sabor: _____
4 – desgostei ligeiramente	Aparência: _____
3 – desgostei moderadamente	
2 – desgostei muito	
1 – desgostei extremamente	

Assinale qual seria sua atitude quanto à compra do produto.	Código da amostra: _____ ()
5 – eu certamente compraria este produto	_____ ()
4 – eu provavelmente compraria este produto	
3 – eu tenho dúvidas se compraria ou não este produto	_____ ()
2 – eu provavelmente não compraria este produto	
1 – eu certamente não compraria este produto	

Comentários:

APÊNDICE B - Termo de consentimento

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

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

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: Avaliação dos processos de produção de cervejas super concentradas elaboradas com xarope de milho e xarope de cana, utilizados como adjuntos de malte.

Pesquisador Responsável: Orerves Martínez Castro

Telefone para contato (inclusive ligações a cobrar): (12) 98236 5343

Pesquisadores participante: João Batista de Almeida Silva

Telefones para contato: (12) 3159 5044, (12) 8116 2490

O objetivo do trabalho é desenvolver uma tecnologia de produção de cervejas super concentradas utilizando xarope de milho e xarope de cana-de-açúcar (melado), como adjuntos de malte. Serão obtidas cervejas com 70 e 55 % de malte, complementados com 30 e 45 % de xarope de milho ou melado de cana, e estudadas as fermentações a temperaturas de 10 e 14 °C. Após a determinação de análises físico-químicas dos mostos, as cervejas serão diluídas a concentrações entre 4 e 5 % (v/v) de etanol, e serão avaliadas as características sensoriais das bebidas. A análise sensorial será feita em duas etapas, por meio de testes afetivos. Em um primeiro momento, será feito um teste para a escolha das melhores proporções de xarope de milho ou melado de cana; e em outro momento, será feita análise dos produtos processados. As análises serão realizadas no laboratório de sensorial da Microcervejaria da EEL, em cabines individuais sob condições adequadas de iluminação e temperatura. Os testes serão realizados por consumidores comuns, convocados por intermédio de informativos distribuídos nos *campi* da Escola de Engenharia de Lorena e selecionados quando consumidores habituais do produto, superiores a 18 anos de idade. Não há nenhum risco, prejuízo, desconforto ou lesões que podem ser provocados pela pesquisa, com garantia de sigilo e direito de retirar o consentimento a qualquer tempo. Este estudo é importante porque seus resultados fornecerão informações para o desenvolvimento de novos produtos.

Declaro ter sido esclarecido sobre os seguintes pontos:

1. Que o trabalho tem por finalidade desenvolver uma tecnologia de produção de cervejas utilizando como adjunto, xarope de milho e melado de cana-de-açúcar;
2. Que como voluntário deste estudo, terei que participar do teste de aceitação das cervejas e informar o quanto gostei ou desgostei do produto;
3. Que a minha participação como voluntário se limitará a uma seção de avaliação sensorial de aproximadamente 15 minutos em um único dia;
4. Que terei risco mínimo ao participar dessa pesquisa; já que será apenas uma seção com consumo de 40 mililitros do produto;
5. Que necessitarei comparecer ao laboratório de análise sensorial da Microcervejaria da EEL para a realização do teste de aceitação do produto;
6. Que não terei nenhuma despesa ao participar desse estudo;
7. Que meu nome será mantido em sigilo, assegurando assim a minha privacidade e se desejar, deverei ser informado sobre os resultados dessa pesquisa;
8. Que poderei me recusar a participar ou mesmo retirar meu consentimento a qualquer momento da realização dessa pesquisa, sem nenhum tipo de prejuízo ou penalização;
9. Eu não terei quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa;
10. Concordo que este estudo é importante porque seus resultados fornecerão informações para o desenvolvimento de novos produtos;
11. Que em caso de qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos poderei entrar em contato com a equipe científica pelo telefone (Orerves Martínez Castro, tel: 12 3157 6043 ou 12 98236 5343);

Diante dos esclarecimentos prestados, concordo em participar, como voluntária(o), do estudo **Avaliação dos processos de produção de cervejas super concentradas elaboradas com xarope de milho e xarope de cana, utilizados como adjuntos de malte.**

Nome e Assinatura do pesquisador

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____,
RG _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo **Avaliação dos processos de produção de cervejas super concentradas elaboradas com xarope de milho e xarope de cana, utilizados como adjuntos de malte**, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador Orerves Martínez Castro sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data _____/_____/_____/_____

Assinatura do Voluntário _____

Assinatura do Pesquisador _____ (Orerves Martínez)

Assinatura do Orientador _____ (Prof. Dr. João Batista de Almeida e Silva)

APÊNDICE C - Gráficos de fermentação

Figura C1 – Gráfico de fermentação do experimento M;10°C;30%, em escala de bancada.

Figura C2 – Gráfico de fermentação do experimento C;10°C;30%, em escala de bancada.

Figura C3 – Gráfico de fermentação do experimento M;14°C;30%, em escala de bancada.

Figura C4 – Gráfico de fermentação do experimento C;14°C;30%, em escala de bancada.

Figura C5 – Gráfico de fermentação do experimento M;10°C;45%, em escala de bancada.

Figura C6 – Gráfico de fermentação do experimento C;10°C;45%, em escala de bancada.

Figura C7 – Gráfico de fermentação do experimento M;14°C;45%, em escala de bancada.

Figura C8 – Gráfico de fermentação do experimento C;14°C;45%, em escala de bancada.

Figura C9 – Gráfico de fermentação do experimento M;8,6°C;37,5%, em escala de bancada.

Figura C10 – Gráfico de fermentação do experimento M;15,4°C;37,5%, em escala de bancada.

Figura C11 – Gráfico de fermentação do experimento M;12°C;24,9%, em escala de bancada.

Figura C12 – Gráfico de fermentação do experimento M;12°C;50,1%, em escala de bancada.

Figura C13 – Gráfico de fermentação do experimento C;8,6°C;37,5%, em escala de bancada.

Figura C14 – Gráfico de fermentação do experimento C;15,4°C;37,5%, em escala de bancada.

Figura C15 – Gráfico de fermentação do experimento C;12°C;24,9%, em escala de bancada.

Figura C16 – Gráfico de fermentação do experimento C;12°C;50,1%, em escala de bancada.

Figura C17 – Gráfico de fermentação do experimento M;12°C;37,5%, em escala de bancada.

Figura C18 – Gráfico de fermentação do experimento C;12°C;37,5%, em escala de bancada.

Figura C19 – Gráfico de fermentação do experimento C;15,4°C;37,5%, em escala piloto.

Figura C20 – Gráfico de fermentação da cerveja padrão, em escala piloto.

APÊNDICE D - Cálculos dos diferentes parâmetros para elaborar a Cerveja Super Concentrada na escala piloto.

Volume de xarope.

$$V_x = \frac{(V_m \times C_m \times P_x)}{(C_x \times P_m)} = \frac{(0,893 \times 17,02 \times 37,5)}{(85,56 \times 62,5)} = 0,107 hL$$

Nota: V_x – Volume do xarope de cana a adicionar (hL).
 C_m – Concentração do mosto puro malte (kg/hL).
 P_x – Proporção do xarope de cana no extrato (%).
 V_m – Volume do mosto puro malte a adicionar (hL).
 P_m – Proporção do mosto puro malte no extrato (%).

Extrato original.

$$EO = \frac{(V_m \times C_m) + (V_x \times C_x)}{(V_m + V_x)} = \frac{(0,893 \times 17,02) + (0,107 \times 85,56)}{(0,893 + 0,107)} = 24,35 \text{ kg / hL} = 22,31^\circ P$$

Nota: EO – Extrato original.

Volume de água de diluição.

$$V_a = \frac{(V_m \times C_m) + (V_x \times C_x)}{C_{ds}} - (V_m + V_x) = \frac{(0,893 \times 17,02) + (0,107 \times 85,56)}{10,38} - (0,893 + 0,107) = 1,35 hL$$

Nota: V_a – Volume de água a adicionar para cada hectolitro de cerveja concentrada (hL).
 C_{ds} – Concentração de extrato original desejada na cerveja diluída (kg/hL).

Calor utilizado na elaboração do mosto.

Massa de malte.

$$M_m = C_{mf} \times V_m \times \frac{1}{P_e} \times \frac{1}{R_m} = 17,02 \times 0,893 \times \frac{1}{0,96} \times \frac{1}{0,7592} = 20,85 \text{ kg}$$

Nota: M_m – Massa de malte (kg).
 C_{mf} – Concentração do mosto depois da fervura (kg/hL).
 P_e – Perdas de extrato na sala de brasagem.
 R_m – Rendimento do malte.

Concentração da mistura do malte e da água na mosturação.

$$C_m = \frac{Mm \times Rm}{(Mm \times Rm) + (Mm \times Hm) + A} = \frac{20,85 \times 0,7592}{(20,85 \times 0,7592) + (20,85 \times 0,045) + 52,125} = 22,98^\circ P$$

Nota: C_m – Concentração da mistura ($^\circ P$).

Hm – Umidade do malte (%).

A – Massa de água (kg).

 C_p da mistura na mosturação.

$$c_p = \frac{H}{100} + 0,2 \times \frac{100 - H}{100} = \frac{70,7}{100} + 0,2 \times \frac{100 - 70,7}{100} = 0,77$$

$$H = \frac{HT}{MT} \times 100 = \frac{53,06}{72,98} \times 100 = 70,7$$

$$HT = (Mm \times Hm) + A = (20,85 \times 0,045) + 52,125 = 53,06$$

$$MT = Mm + A = 20,85 + 52,125 = 72,98$$

$$A = Mm \times Ra = 20,85 \times 2,5 = 52,125$$

Nota: C_p – Calor específico (kcal/kg $^\circ C$).

H – Umidade da mistura (%).

HT – Massa de água na mistura (kg).

MT – Massa da mistura (kg).

Hm – Umidade do malte (%).

A – Massa de água (kg).

Ra – Proporção de água por quilograma de malte (kg/kg).

Calor na mosturação.

$$Q_{abs} = (Mm + A) \times C_p \times \Delta T = (20,85 + 52,125) \times 0,77 \times (95 - 38) = 3554,0$$

Nota: Q_{abs} – Calor que absorve a mistura de malte e água (kcal).

ΔT – Diferença de temperatura ($^\circ C$).

Calor fornecido para elevar a temperatura do mosto à fervura.

$$Q_{aq} = V1 \times \rho \times C_p \times \Delta T = 0,973 \times 105,814 \times 0,882 \times (100 - 94) = 544,85$$

Nota: Q_{aq} – Calor que absorve o mosto para sua temperatura à fervura.

V_1 – Volume na tina de fervura no início desta etapa, para um equipamento com 6% de taxa de evaporação/h e um tempo de fervura de 1,5h.

ρ – Densidade do mosto a 15,62kg/hL ou 14,76°P (kg/hL).

Cp do mosto depois da extração.

$$cp = \frac{H}{100} + 0,2 \times \frac{100 - H}{100} = \frac{85,24}{100} + 0,2 \times \frac{100 - 85,24}{100} = 0,882$$

Calor de evaporação da fervura.

$$Q_{ev} = (V_1 - V_m) \times fc \times \rho \times \lambda = (0,973 - 0,893) \times \frac{100}{1} \times 1 \times 539 = 4312,0$$

Nota: Q_{ev} – Calor utilizado na fervura do mosto (kcal).

ρ – Densidade da água (kg/L).

fc – Fator de conversão (L/hL).

λ – Calor latente de evaporação da água (kcal/kg).

Calor de aquecimento na elaboração do xarope.

$$Q_{ax} = V_1 \times \rho \times Cp \times \Delta T = 0,1086 \times 131,149 \times 0,486 \times (100 - 30) = 484,5$$

Cp do xarope.

$$cp = \frac{H}{100} + 0,2 \times \frac{100 - H}{100} = \frac{35,75}{100} + 0,2 \times \frac{100 - 35,75}{100} = 0,486$$

Calor de evaporação na elaboração do xarope.

$$Q_{ex} = (V_{1x} - V_x) \times fc \times \rho \times \lambda = (0,1086 - 0,107) \times \frac{100}{1} \times 1 \times 539 = 86,24$$

Nota: Q_{ax} – Calor utilizado no aquecimento do xarope (kcal).

Q_{ex} – Calor utilizado na fervura do xarope (kcal).

V_{x1} – Volume de xarope na tina cheia (hL).

V_x – Volume de xarope (hL).

ρ – Densidade da água (kg/L).

Calor total utilizado para obter o mosto da cerveja concentrada.

$$QT = Q_{abs} + Q_{aq} + Q_{ev} + Q_{ax} + Q_{ex} = 8981,6$$

APÊNDICE E - Cálculos dos diferentes parâmetros para elaborar a Cerveja Padrão na escala piloto.

Calor utilizado na elaboração do mosto.

Massa de malte.

$$Mm = Cmf \times Vm \times pm \times \frac{1}{Pe} \times \frac{1}{Rm} = 10,38 \times 1,00 \times 0,625 \times \frac{1}{0,96} \times \frac{1}{0,7592} = 8,90 \text{ kg}$$

Donde: Mm – Massa de malte (kg).

Cmf – Concentração do mosto depois da fervura (kg/hL).

Pm – Proporção de malte no mosto (%).

Pe – Perdas de extrato na sala de brasagem.

Rm – Rendimento do malte.

Concentração da mistura do malte e da água na mosturação.

$$Cm = \frac{Mm \times Rm}{(Mm \times Rm) + (Mm \times Hm) + A} = \frac{8,90 \times 0,7592}{(8,90 \times 0,7592) + (8,90 \times 0,045) + 35,6} = 15,80^\circ P$$

Em que:

Cm – Concentração da mistura (°P).

Hm – Umidade do malte (%).

A – Massa de água (kg).

Cp da mistura na mosturação.

$$cp = \frac{H}{100} + 0,2 \times \frac{100 - H}{100} = \frac{80,9}{100} + 0,2 \times \frac{100 - 80,9}{100} = 0,847$$

$$H = \frac{HT}{MT} \times 100 = \frac{36,0}{44,5} \times 100 = 80,9$$

$$HT = (Mm \times Hm) + A = (8,9 \times 0,045) + 35,6 = 36,0$$

$$MT = Mm + A = 8,9 + 35,6 = 44,5$$

$$A = Mm \times Ra = 8,90 \times 4,0 = 35,6$$

Donde: C_p – Calor específico (kcal/kg°C).

H – Umidade da mistura (%).

HT – Massa de água na mistura (kg).

MT – Massa da mistura (kg).

Hm – Umidade do malte (%).

A – Massa de água (kg).

Ra – Proporção de água por quilograma de malte (kg/kg).

Calor na mosturação.

$$Q_{abs} = (Mm + A) \times C_p \times \Delta T = (8,90 + 35,6) \times 0,847 \times (78 - 38) = 1507,66$$

Donde: Q_{abs} – Calor que absorve a mistura de malte e água (kcal).

ΔT – Diferença de temperatura (°C).

Calor fornecido para elevar a temperatura do mosto à fervura.

$$Q_{aq} = V1 \times \rho \times C_p \times \Delta T = 1,09 \times 103,485 \times 0,926 \times (100 - 78) = 2297,9$$

C_p do mosto depois da extração.

$$c_p = \frac{H}{100} + 0,2 \times \frac{100 - H}{100} = \frac{90,8}{100} + 0,2 \times \frac{100 - 90,8}{100} = 0,926$$

Calor de evaporação da fervura.

$$Q_{ev} = (V1 - Vm) \times f_c \times \rho \times \lambda = (1,09 - 1,00) \times \frac{100}{1} \times 1 \times 539 = 4851,0$$

Calor total utilizado para obter o mosto da cerveja padrão.

$$QT = Q_{abs} + Q_{aq} + Q_{ev} = 8656,6$$

APÊNDICE F - Cálculos da economia de calor e do óleo combustível poupado nas cervejas elaboradas na escala piloto.

$$PQ = Qp - \frac{Qc}{fd} = 8656,6 - \frac{8981,6}{2,35} = 4834,7$$

$$\%P = 100 - \frac{\frac{Qc}{fd} \times 100}{Qp} = 100 - \frac{\frac{8981,6}{2,35} \times 100}{8656,6} = 55,85\%$$

$$Mc = PQ \times fc \times fa = (4834,7 \times \frac{1}{9700} \times 0,9903 = 0,49kg$$

Donde: PQ – Poupança de calor (kcal).

Qp – Calor utilizado na cerveja padrão (kcal).

Qc – Calor utilizado na cerveja concentrada (kcal).

Fd – Fator de diluição da cerveja concentrada.

%P – Porcentagem de poupança de energia (%).

Mc – Massa de combustível (kg).

Fc – Fator de conversão (kg/kcal).

Fa – Fator de conversão a petróleo equivalente.

APÊNDICE G - Cálculos da energia elétrica utilizada no resfriamento dos mostos para a elaboração das Cervejas na escala piloto.

Cerveja concentrada.

Calor cedido.

$$Q_{ced1} = Vm \times \rho \times Cp \times \Delta T = 0,893 \times 106,346 \times 0,87 \times (40 - 15,4) = 2032,5$$

$$cp = \frac{H}{100} + 0,2 \times \frac{100 - H}{100} = \frac{84,0}{100} + 0,2 \times \frac{100 - 84,0}{100} = 0,87$$

$$Q_{ced2} = Vx \times \rho x \times Cp \times \Delta T = 0,107 \times 131,633 \times 0,48 \times (40 - 15,4) = 166,3$$

$$cp = \frac{H}{100} + 0,2 \times \frac{100 - H}{100} = \frac{35,0}{100} + 0,2 \times \frac{100 - 35,0}{100} = 0,48$$

$$Q_{cedT} = Q_{ced1} + Q_{ced2} = 2198,8$$

Donde: Q_{cedT} – Calor total cedido (kcal).

Q_{ced1} – Calor cedido pelo mosto (kcal).

Q_{ced2} – Calor cedido pelo xarope (kcal).

V_m – Volume de mosto (hL).

V_x – Volume de xarope (hL).

ρ_m – Densidade do mosto a 16°P (kg/L).

ρ_x – Densidade do xarope a 65°P (kg/L).

Calculo de energia elétrica.

$$I = Q_{Teq} \times f_c \times f_e = 935,7 \times \frac{1}{860} \times \frac{1}{0,85} = 1,28$$

$$Q_{Teq} = \frac{Q_{cedT}}{fd} = \frac{2198,8}{2,35} = 935,7$$

Donde: I – Energia elétrica utilizada para o resfriamento (kw-h/hL).

Q_{Teq} – Calor cedido pela cerveja diluída (kcal).

f_c – Fator de conversão de kw-h a kcal.

f_e – Fator de eficiência do uso da energia elétrica.

Cerveja padrão.

Calor cedido.

$$Q_{ced1} = V_m \times \rho \times C_p \times \Delta T = 1,0 \times 103,814 \times 0,92 \times (40 - 15,4) = 2349,5$$

$$c_p = \frac{H}{100} + 0,2 \times \frac{100 - H}{100} = \frac{90,0}{100} + 0,2 \times \frac{100 - 90,0}{100} = 0,92$$

Calculo de energia elétrica.

$$I = Q_{Teq} \times f_c \times f_e = 2349,5 \times \frac{1}{860} \times \frac{1}{0,85} = 3,21$$

D 4.3 Poupança da energia elétrica nas cervejas na escala piloto.

$$\Delta I = 3,21 - 1,28 = 1,93 \text{ kw} - \text{h} / \text{hL}$$