UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

RAQUEL DE ALMEIDA BATISTA

Produção e Avaliação Sensorial de Cerveja com Pinhão (*Araucaria
angustifolia*)

Lorena
2014

RAQUEL DE ALMEIDA BATISTA

Produção e Avaliação Sensorial de Cerveja com Pinhão (*Araucaria angustifolia*)

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

Orientador: Dr. João Batista de Almeida e Silva

Edição reimpressa e corrigida

Lorena - SP
Setembro, 2014

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

Catálogo na Publicação
Biblioteca “Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite”
Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Batista, Raquel de Almeida

Produção e avaliação sensorial de cerveja com pinhão (*Araucaria angustifolia*)./ Raquel de Almeida Batista. –ed. reimpr., corr. - 2014.

108 p.: il.

Dissertação (Mestre em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2014.

Orientador: João Batista de Almeida e Silva

1. Cerveja 2. Pinhão 3. *Araucaria angustifolia* 4. Físico-química (Análise) 5. Análise sensorial de alimentos. I. Título. II. Silva, João Batista de Almeida e, orient.

663.4 - CDU

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. João Batista de Almeida e Silva, pela orientação e ensinamentos transmitidos durante a realização deste trabalho.

À Professora Dra. Maria das Graças de Almeida Felipe, pelo apoio e estímulo ao longo da minha vida. Igualmente ao professor Dr. Humberto Felipe da Silva, com seus ensinamentos e dicas.

À minha prima Cláudia, pelos conselhos valiosos.

À Dra. Priscila Vaz de Arruda, pela contribuição antes e durante o desenvolvimento de meu Mestrado em Biotecnologia Industrial.

Aos meus pais pelo apoio para que eu seguisse a carreira acadêmica.

Aos professores, demais funcionários e alunos do Departamento de Biotecnologia pela ajuda oferecida.

Aos colegas da Microcervejaria, Bárbara, Carolina, Diogo, Eduardo, Larissa, Raquel Aizemberg, Ricardo pela ajuda e em especial ao Oservez e Waldir pela valiosa contribuição na execução do experimento na planta piloto.

À professora Luciana Cardoso Nogueira, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, pela disponibilização de tempo e ajuda na execução dos resultados das fermentações em escala piloto.

À Dra. Adriane Maria Ferreira Milagre, coordenadora da Comissão de Pós Graduação do Departamento de Biotecnologia e ao André, secretário da mesma comissão, pela ajuda e conselhos oferecidos.

À Sandra e Cida secretárias Comissão de Pós Graduação da EEL-USP pelo apoio.

Aos funcionários da EEL-USP que colaboraram com a realização deste trabalho.

À professora “Dodora”, nos momentos que mais precisava.

À Capes, pela bolsa de mestrado concedida ao longo dos dois anos de pesquisa.

À todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização do trabalho.

RESUMO

BATISTA, R.A. **Produção e avaliação sensorial de cerveja com pinhão (*Araucaria angustifolia*)**. 2014. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

Cerveja é toda 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 ainda parte do malte de cevada ser substituído por cereais malteados ou não e por carboidratos de origem vegetal transformados ou não. Nota-se que nas duas últimas décadas tem ocorrido um fenômeno no universo cervejeiro, o crescimento do mercado de cervejas que empregam adjuntos, entre eles os mais comuns como milho e trigo, e os não convencionais, como banana, canela, arroz preto. Visando a adição de características sensoriais diferentes adquiridas por provadores mais exigentes, aliado à redução de custos pela diminuição do uso de malte de cevada, o pinhão surge como alternativa de adjunto para a produção de cerveja. Este adjunto além de possuir conteúdo apropriado de amido, possui uma casca com compostos fenólicos que podem conferir coloração diferenciada ao produto. O principal objetivo desta pesquisa foi produzir uma cerveja utilizando diferentes proporções de malte de cevada e de pinhão de forma a se obter uma bebida alcoólica diferenciada que atenda a expectativa do consumidor. Inicialmente, testes preliminares foram realizados para determinar se a proporção de malte em relação ao pinhão seria suficiente para sacarificar todos os açúcares durante as etapas da mosturação. Após isto formulou-se 6 cervejas com diferentes proporções de pinhão e malte (10:90, 45:55 e 80:20 com e sem casca), em escala de bancada, em Erlenmeyer com capacidade de 2L, contendo 1,2L de mosto a 10,9°P e aquelas duas mais aceitas no teste de aceitação (sensorial) (10% pinhão com casca e 45% pinhão sem casca) foram reproduzidas em escala piloto (em reator com capacidade para 120L, contendo 50L de mosto). Os resultados mostraram que as cervejas produzidas (em escala de bancada) com maior teor de pinhão e com casca obtiveram os menores resultados de teor alcoólico. Isto ocorreu devido à maior concentração de compostos fenólicos presentes na casca de pinhão que são menos assimiláveis pela levedura, tendo a cerveja com 10% pinhão sem casca (em escala de bancada) a que obteve os melhores resultados em conversão em etanol bem como o grau de atenuação aparente(0,61). O aumento da escala de produção de bancada para escala piloto resultou numa diminuição do valor de extratos e teor alcoólico, devido à uma necessidade de maior utilização de água de lavagem (diminuição teor extratos). Para a análise sensorial, as amostras que apresentaram diferença estatística em nível de 5% de probabilidade entre si pelo teste t de Student e que foram escolhidas para reprodução em escala piloto foram as de 10% de pinhão com casca e de 45% de pinhão sem casca. Para a escala piloto, a cerveja comercial foi mais aceita em relação às amostras contendo pinhão (tanto para 10% com casca como 45% sem casca), para todos os atributos avaliados (coloração, aroma, gosto, impressão global e intenção de compra). Ainda assim, as cervejas produzidas em escala piloto foram tão bem ou mais aceitas que as mesmas proporções produzidas em escala de bancada, em relação ao parâmetro impressão global.

Palavras-chave: Cerveja. Pinhão. *Araucaria angustifolia*. Físico-química (Análise). Análise sensorial de alimentos.

ABSTRACT

BATISTA, R.A. **Production and sensorial evaluation of beer with pinhão (*Araucaria angustifolia*)**. 2014. 108f. Dissertação (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

Beer is all beverage obtained by alcoholic fermentation of brewery wort provided of barley malt and water, with addition of hop, may also the barley malt used in the elaboration of beer and of hop were substituted by your respective extracts. Part of the barley malt can be substituted by malted cereals or not, and for carbohydrates of vegetal origin transformed or not. This possibilities that the last two decades a phenomenon in the brewery universe, the growth of the beer markets that uses adjuncts besides them the most common as corn and wheat, and the non-conventional, as banana, cinnamon, black rice. Aiming to an addition of different sensorial characteristics acquired by tasters more exigent, and to the reduction of costs by de diminution of use of barley malt, the “pinhão” surges as alternative of adjunct for the beer production. This adjunct besides have an appropriate content of starch, have a barley with phenolic compounds that can contribute for a differentially color to the product. The main objective of this search was produce a beer using different proportions of barley malt and of “pinhão” in order to obtain a differentiate alcoholic beverage that attends the expectation of consumer. Initially, preliminary tests were performed to determine the proportion of malt with respect to the pinion would be sufficient to saccharify all sugars during mashing steps. After this, it was formulated 6 different proportions of “pinhão” and malt (10:90, 45:55 e 80:20 with and without bark), in bench scale in Erlenmeyer flasks with capacity 2L, 1,2L of wort containing 10.9 ° P and those two are more acceptable in acceptance test (sensory) (10% “pinhão” with bark and 45% “pinhão” without bark) were reproduced in pilot scale (in reactor with a capacity of 120L, containing 50L of wort). The results showed that those with higher levels of “pinhão” with and without bark had the lowest alcohol content results, probably because of the higher concentration of phenolic compounds that are present in the “pinhão” bark that are less assimilable by yeast, having the beer with 10% “pinhão” (in stand scale) that obtained the best results in ethanol conversion. The best attenuation degree was when utilized the proportion 10% of “pinhão” with barley (0.60). The increase of scale of stand scale for pilot scale results in diminution of value of extracts and alcoholic content, due to an necessity of more utilization of washing water (diminution of content of extracts), having the beer with 10% of “pinhão” with barley obtained superiors results compared with 45% without bark, that was shown in stand scale. For the sensorial analysis, in relation to stand scale, the samples that presented statistical differences in level of 5% of probability by the t of Student and was chosen to make in pilot scale was 10% of pinhão with bark and 45% “pinhão” without bark. For the pilot scale, the commercial beer was more accepted in relation to the sample containing pinhão (for both cases, with 10% with bark and 45% without bark), for all evaluated attributes (color, aroma, flavor, global impression and intention of buy). However, comparing the stand with pilot scale, it has noticed an increase of the value of global evaluation during sensorial analysis. However, the beer produced in pilot scale was so or more accepted than the same proportions produced in bench scale, in relation to the parameter global impression.

Keywords: Beer. “Pinhão”. *Araucaria angustifolia*. Physico-chemical (Analysis). Sensorial analysis of food.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	14
2.1 GERAL.....	14
2.2 ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 <i>ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA</i>	15
3.1.1 PINHÃO.....	17
3.2 CERVEJA	19
3.2.1 DEFINIÇÃO	19
3.2.2 ORIGEM	20
3.2.3 MATÉRIAS PRIMAS	21
3.2.3.1 ÁGUA	21
3.2.3.2 MALTE	22
3.2.3.3 LÚPULO	23
3.2.3.4 LEVEDURA	24
3.2.3.5 ADJUNTOS	26
3.2.4 PRODUÇÃO DE CERVEJA	31
3.2.4.1 MALTEAÇÃO.....	32
3.2.4.2 MACERAÇÃO/TRITURAÇÃO	33
3.2.4.3 PRODUÇÃO DO MOSTO.....	34
3.2.4.4 FERVURA DO MOSTO	38
3.2.4.5 PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO E MATURAÇÃO.....	38
3.2.4.6. ENVASE E ACABAMENTO	39
3.2.5 CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES	40

3.2.6 MERCADO DE BEBIDAS	43
3.2.7 ANÁLISE SENSORIAL DA CERVEJA	44
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	52
4.1 MATÉRIAS PRIMAS	52
4.1.1 ÁGUA	52
4.1.2 MALTE DE CEVADA.....	52
4.1.3 LÚPULO.....	52
4.1.4 PINHÃO (<i>Araucaria angustifolia</i>)	52
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO PINHÃO	53
4.2.1 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE GELIFICAÇÃO	53
4.2.2 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE DO PINHÃO CRU	53
4.2.3 DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO DE SECAGEM DO PINHÃO	53
4.2.4 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE DO PINHÃO COZIDO.....	54
4.3 MICRORGANISMO E PREPARO DO INÓCULO	54
4.4 PROCESSO CERVEJEIRO (TESTES PRELIMINARES)	55
4.4.1 MOAGEM DO PINHÃO IN NATURA	55
4.4.2 MOSTURAÇÃO	56
4.4.3 FILTRAÇÃO	57
4.4.4 FERVURA.....	57
4.4.5 FERMENTAÇÕES.....	57
4.5 PROCESSO CERVEJEIRO EM ESCALA DE BANCADA	58
4.5.1 HIDRÓLISE DO PINHÃO	58
4.5.2 MOAGEM DO PINHÃO SECO E COZIDO	58
4.5.3 PREPARO DO MOSTO/MOSTURAÇÃO	58
4.5.4 FILTRAÇÃO DO MOSTO	58

4.5.5 FERVURA DO MOSTO/LUPULAGEM.....	59
4.5.6 FERMENTAÇÕES E MATURAÇÃO.....	59
4.5.7 EMBALAGEM E CARBONATAÇÃO	59
4.5.8 ANÁLISE SENSORIAL.....	60
4.5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
4.6 PROCESSO CERVEJEIRO EM ESCALA PILOTO	61
4.6.1 HIDROLISE DO PINHÃO	61
4.6.2 MOAGEM.....	61
4.6.3 MOSTURAÇÃO	61
4.6.4 FILTRAÇÃO DO MOSTO.....	62
4.6.5 FERVURA DO MOSTO/LUPULAGEM.....	62
4.6.6 FERMENTAÇÕES E MATURAÇÃO	63
4.6.7 EMBALAGEM E CARBONATAÇÃO	63
4.6.8 ANÁLISE SENSORIAL.....	63
4.6.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	65
4.7 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	65
4.7.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	65
4.7.2 PARÂMETROS FERMENTATIVOS.....	66
4.7.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	67
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO PINHÃO.....	68
5.1.1 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE GELIFICAÇÃO	68
5.1.2 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE DO PINHÃO.....	68
5.1.3 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE SECAGEM	69
5.2 PROCESSO CERVEJEIRO (TESTES PRELIMINARES).....	70

5.2.1 MOSTURAÇÃO	70
5.2.2 FERMENTAÇÕES.....	71
5.3 PROCESSO CERVEJEIRO EM ESCALA DE BANCADA	75
5.3.1 PREPARO DO MOSTO/MOSTURAÇÃO	75
5.3.2 FERMENTAÇÕES E MATURAÇÃO	77
5.3.3 ANÁLISE SENSORIAL	82
5.3.3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PROVADORES	82
5.3.3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	83
5.4 PROCESSO CERVEJEIRO EM ESCALA PILOTO	85
5.4.1 PREPARO DO MOSTO/MOSTURAÇÃO	85
5.4.2 FERMENTAÇÕES E MATURAÇÃO	85
5.4.3 ANÁLISE SENSORIAL	91
5.4.3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PROVADORES	91
5.4.3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	92
6 CONCLUSÕES	99
7 DIFICULDADES ENCONTRADAS.....	100
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

1 INTRODUÇÃO

Cerveja é toda 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 ainda o malte de cevada usado na elaboração de cerveja e o lúpulo serem substituídos por seus respectivos extratos, bem como parte do malte de cevada poderá ser substituído por cereais malteados ou não, e por carboidratos de origem vegetal transformados ou não. Cerveja é uma bebida consumida em todo mundo, e no Brasil é a bebida alcoólica mais consumida, alcançando um consumo per capita de 72litros/pessoa/ano. Sua distribuição começou com a vinda dos holandeses no século VXII, e industrialmente a partir do final do século XVIII.

Na composição da cerveja utilizam-se matérias primas que incluem água, malte de cevada, lúpulo e levedura, e, em muitos casos, são utilizados adjuntos malteados ou não, com o intuito de modificar suas características sensoriais, além de poder contribuir para diminuição do preço da bebida. A cerveja puro malte tradicional é mais cara, pelo fato dos maltes utilizados em grandes cervejarias serem importados de outros países.

A indústria cervejeira geralmente utiliza outras fontes de carboidratos designados como adjuntos como o arroz, trigo, milho, sorgo, existindo também os adjuntos designados como não convencionais como a banana, o arroz preto e a pupunha. Os adjuntos além de contribuírem com a diminuição do custo de produção da bebida, e proporcionar uma cerveja com aromas característicos, devem ser escolhidos pela disponibilidade regional. Neste contexto a utilização do pinhão se apresenta como uma opção de adjunto na produção de cerveja em função de suas características como quantidade apropriada de amido e ser encontrado facilmente na região, e cultivado na Serra do Mar e da Mantiqueira. Além destas características o pinhão possui ainda polifenóis, que além de atuarem como antioxidantes conferem coloração apropriada. Desta forma, a utilização do pinhão como adjunto para a obtenção de cerveja pode propiciar uma bebida alcoólica com características físico-químicas e sensoriais diferenciadas.

A análise sensorial é uma etapa importante no processo de produção de cerveja, a qual se mostra como um parâmetro importante na aceitação do produto como, por exemplo, determinar a porção do mercado que tem intenções de compra. O uso da análise sensorial se

desenvolveu mais na década de 1970, com o surgimento de métodos descritivos de análises, os quais permitem detalhar as características de um determinado produto.

Desta forma a proposta deste trabalho foi avaliar a utilização do pinhão na produção de cerveja tendo como parâmetro de qualidade e aceitação o perfil físico-químico e sensorial da bebida a fim de colocar um novo produto no mercado que possa agregar valor à agricultura familiar dos pequenos produtores de pinhão.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Contribuir para desenvolvimento de uma tecnologia para obtenção de uma cerveja utilizando pinhão.

2.2 ESPECÍFICOS

- Determinar o perfil da curva de mosturação usando o pinhão como adjunto cervejeiro.
- Obter em escala laboratorial cervejas com diferentes relações pinhão:malte: 10:90, 45:55 e 80:20, utilizando pinhão com ou sem casca, utilizando uma levedura tipo 'Lager'.
- Avaliar sensorialmente as cervejas obtidas em escala de laboratório (bancada).
- Estabelecer a melhor proporção de malte:pinhão que mais agrada os provadores.
- Caracterizar físico-quimicamente a cerveja produzida
- Produzir a cerveja utilizando as proporções recomendadas em escala de bancada e ampliar para escala piloto.
- Avaliar sensorialmente e físico-quimicamente a cerveja obtida em escala piloto com uma produzida no mercado brasileiro.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA

O pinheiro brasileiro (*Araucaria angustifolia*) é a conífera mais importante economicamente das espécies nativas do Brasil e pertence à família *Araucariaceae* (ZANDAVALLI; DILLENBURG; DE SOUZA, 2004). Sua distribuição geográfica na América do Sul inclui Argentina e Brasil. No Brasil o plantio está concentrado nos Estados do sul como Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (REITZ; KLEIN; REIS, 1978). No estado de São Paulo, seu cultivo está concentrado na Serra do Mar que abrange a região de Cunha e na serra da Mantiqueira na divisa entre o estado de São Paulo e de Minas Gerais. Essa espécie ocorre em vários tipos de solos, começando pelos menos férteis a exemplo dos derivados de arenito, como ocorre na região de Campos Gerais, até aqueles mais férteis, provenientes do basalto, no sudoeste do Paraná e oeste de Santa Catarina (SILVA et al. 2001).

Estudos de evolução da *Araucaria* mostraram que este gênero é o mais primitivo entre as coníferas, apresentando um padrão embriogênico que difere daqueles conhecidos como *Pinus*, *Taxus* e *Sequoia* (HAINES; PRAKASH, 1980; GIFFORD; FOSTER, 1989).

O pinheiro é uma planta dioica, apresentando exemplares machos e fêmeas, ambos produzindo flores. O macho fornece o pólen que, através do vento, dos pássaros, dos insetos e dos roedores menores, fecunda a fêmea, que produz o pinhão (CARVALHO, 1950).

A produção de pinhões inicia-se entre 10 e 15 anos após o plantio. Na fase de produção a árvore produz pseudo-frutos reunidos em estróbilo feminino ou pinha (ovário), com diâmetros entre 10 a 15cm, composto de 700 a 1200 escamas, com número variável de sementes (entre cinco a 150 unidades) e que pesam até 4700g (MATTOS, 1972). A *Araucaria angustifolia* é uma conífera com sementes largas e nutritivas (CONFORTI; LUPANO, 2010). As pinhas são encontradas nos galhos, entre uma e duas em cada ramo, alcançando até 14 unidades em um mesmo galho. Suas sementes são grandes em tamanho 3 a 8cm x 1 a 2cm e peso 6,5 a 8,5g (REITZ et al., 1978).

A Figura 1 mostra o formato de uma pinha madura.

Figura 1- Formato de uma pinha em estado madura.

Fonte: autor

A araucária é muito utilizada também como madeira apresentando boas características físicas e mecânicas em relação à sua massa específica. Sua casca, esponjosa e resinosa, é indicada para fins energéticos principalmente para o uso em fogões domésticos, por queimar facilmente e possuir poder calorífico considerável (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2012).

A árvore pode também ser utilizada para produção de celulose e papel, pois ela possui um teor de celulose da ordem de 58,3% e 28,5% de lignina. Sua celulose, por ser de fibra longa, produz um papel de excelente qualidade. A casca quando fermentada oferece uma bebida agradável, e com propriedades medicinais. Já a sua resina, que é exsudada da casca, fornece subprodutos como alcatrão, óleos, terebintina, breu, vernizes, acetona e ácido pirolenhoso, entre outros componentes (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2012).

A *Araucaria angustifolia* oferece ainda outros usos entre os quais podem ser destacados como na alimentação animal, na alimentação humana, em artesanato, uso medicinal, paisagístico, e reflorestamento para recuperação ambiental (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2012).

3.1.1 PINHÃO

O pinhão é a semente comestível da *Araucaria angustifolia*, a qual é consumida cozida, principalmente nas estradas das regiões produtoras, como na região serrana do Rio Grande do Sul (CLADERA-OLIVERA et al., 2005). Apesar de seu potencial econômico, existem obstáculos para a comercialização do pinhão, e Philippi (2003) destaca a falta de processos tecnológicos para uma eficiente conservação e industrialização, principalmente em função do baixo preço pago para o produtor.

Aspectos que dificultam a comercialização do pinhão são devidos a alta umidade, acima de 80% em base seca (na semente), e sua atividade de água, no valor de 0,98, o que pode acarretar contaminação por fungos (CLADERA-OLIVERA et al., 2005). A produção da farinha é feita artesanalmente nas regiões onde ainda há araucárias, e apesar de sua baixa expressão comercial, possibilita a confecção de broas, tortas e pães (LEITE, 2007).

A obtenção do pinhão pode ser realizada pelo desfalhamento das pinhas quando maduras, e os pinhões são catados no chão; ou, as pinhas são derrubadas das árvores e os pinhões são extraídos manualmente da pinha. Após colheita, recomenda-se a eliminação de sementes pequenas, selecionando aquelas maiores, que medem mais de 6 cm de comprimento, por serem mais capazes de produzir mudas com melhores características de desenvolvimento e instalação no campo (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2012).

Existe aderido à semente uma membrana interna e uma capa muito resistente ambas são facilmente removidas após as sementes serem cozidas em água. A capa externa protege a semente da perda de minerais durante ebulição e a capa interna fornece os compostos fenólicos para a semente (CORDENUNSI et al., 2004).

Segundo Hollman (2001), como resultado do cozimento, as sementes brancas de pinhão tornam-se marrons em sua superfície por causa da migração de certos compostos corantes presentes nas capas interna e externa. Também para este autor o gosto adstringente

e a cor amarronzada da superfície das sementes cozidas e a água usada no cozimento indicam que a coloração marrom pode ser devido à oxidação de compostos fenólicos. Estes compostos polifenólicos ocorrem largamente no reino *Plantae* e são importantes para a saúde humana, pois eles são benéficos para pessoas com doenças cardiovasculares e de câncer, possivelmente associados com as suas propriedades antioxidantes (HOLLMAN, 2001).

Cinquenta a sessenta por cento da energia fornecida pelo pinhão está na forma de açúcares, os quais produzem glicose como produto final da degradação (FRANCO, 1998). Esta glicose é o açúcar solúvel em maior quantidade, e contem quantidades menores de frutose e de sacarose (CORDENUNSI et al., 2004).

As sementes do pinhão são consideradas uma fonte de amido, magnésio e cobre; adicionalmente, como consequência do processo de cozimento (semente com casca), um decréscimo no conteúdo de açúcares solúveis e um aumento de compostos fenólicos podem ser observados. Para a composição aproximada do pinhão, a umidade representa 50% do peso total do pinhão cozido, e o amido é o segundo principal componente com aproximadamente 34%, a qual classifica a semente como boa fonte de carboidratos complexos (CORDENUNSI et al., 2004).

A composição química do pinhão é variável, sendo uma boa fonte de amido, por causa de sua alta quantidade (~34%), no entanto possuem baixo conteúdo de proteínas (~3%) e de lipídios (~1,3%) (Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007), quando comparados com outros alimentos que contém amido como o arroz e o feijão (LEITE, 2007). Estas características são favoráveis à produção de amido estável, branco e sem odor, características necessárias para a indústria de alimentos (MUCILLO, 2009; BICUDO, 2008).

As variações nos teores de proteínas, lipídios e carboidratos estão relacionadas com a desidratação nas etapas finais de maturação, as quais podem modificar o teor de proteínas em até 15% além de estar associados a outros fatores como composição do solo e o clima (CAPELLA; PENTEADO; BALBI, 2009).

Na Tabela 1 estão apresentados os parâmetros nutricionais do pinhão “in natura” e cozido de acordo com pesquisas publicadas por Corrêa e Helm (2010).

Conforti e Lupano (2010) estudaram a estrutura e propriedades nutricionais de proteínas destas sementes, e os resultados mostraram que estas proteínas têm uma alta qualidade nutricional, e que em torno de 70% das proteínas do gametófito são solúveis em água, no entanto sua solubilidade decresce drasticamente na farinha. As principais espécies de proteínas têm peso molecular entre 14,24 e 30kDa.

Tabela 1 –Composição da semente de pinhão *in natura* e cozido.

Composição da semente	Pinhão <i>in natura</i>(g/100g)	Pinhão cozido (g/100g)
Umidade	41,26	49,95
Proteínas	5,92	7,48
Cinzas	2,54	2,11
Lipídios	1,53	0,46
Fibras	23,06	12,18
Carboidratos	25,69	27,82
Ácido linoleico	47,66	39,29
Ácido oleico	21,4	28,35
Ferro	-	0,77 a 2,11
Potássio	-	4,62 a 5,56
Zinco	0,58 a 0,76	0,43 a 0,7
Magnésio	-	35,5a 47,49
Fósforo	1,2064 a 1,5536	
Cálcio	19,17 a 29,33	

Fonte: Corrêa e Helm (2010).

3.2 CERVEJA

3.2.1 DEFINIÇÃO

De acordo com o Decreto 6.871 de 4 de julho de 2009, bebida é todo produto industrializado, destinado à ingestão humana, em estado líquido, sem finalidade medicamentosa ou terapêutica. De acordo com o Decreto 6.871 de 4 de julho de 2009, Artigo 36, cerveja é definida como 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 ainda o malte de cevada usado na elaboração de cerveja e o lúpulo serem substituídos por seus respectivos extratos, bem como parte do malte de cevada poderá ser substituído por cereais malteados ou não, e por carboidratos de origem vegetal transformados ou não.

3.2.2 ORIGEM

As informações disponíveis sobre o início da produção e comercialização de cerveja no Brasil se limitam aos dados oferecidos pelas próprias empresas. Em 2002 a AmBev era a segunda maior produtora de cerveja mundial, perdendo apenas para a Anheuser Busch, dos Estados Unidos, a qual produzia 113,4 milhões de hectolitros (MORADO, 2009).

Os nossos colonizadores portugueses não eram grandes consumidores de cerveja, quanto menos os nativos. Morado (2009) relata que a cerveja foi trazida pelos colonizadores holandeses, no século XVII (1634-1654), pela Companhia das Índias Ocidentais. Com a saída dos holandeses do país em 1654, o país deixou de receber esta bebida por mais de um século e meio, reaparecendo no final do século XVIII (MORADO, 2009).

Em 1850 ainda havia poucas cervejarias no Brasil localizadas em São Paulo, Rio de Janeiro e na região Sul. Entre estas existiam as cervejarias: Cervejaria Brasileira (RJ, 1836), Henrique Schoenbourg (SP, 1840), Georg Heinrich Ritter (Nova Petrópolis/RS, 1846), Henrique Leiden (RJ, 1848), VoegelineBager (RJ, 1848), João Bayer (RJ, 1849), Gabriel Albrecht Schmalz (Joinville/SC, 1852), Henrique Kremer (Petrópolis/RJ, 1854), Carlos Rey (Petrópolis/RJ, 1853) (MORADO, 2009).

As primeiras cervejarias industrializadas originaram no país nas décadas de 1870. A Imperial Fábrica de Cerveja Nacional, de Henrique Leiden e Cia, a Voegelin e Bager, a Carlos Rey e Cia., e a de Henrique Kremer, que se tornou a Imperial Fábrica de Cerveja Nacional em 1876 e que, em 1898, passou a se chamar Cervejaria Bohemia. Em 1888 foram fundadas as duas maiores empresas no país que dominariam o mercado nacional, Companhia Cervejaria Brahma no Rio de Janeiro em 1808 e a Companhia Antarctica Paulista (MORADO, 2009).

Em 1966 e 1967 surgiu a Cerpa – Cervejaria Paraense – e a Skol, respectivamente. Quatro anos depois, foi lançada a primeira latinha de cerveja brasileira, feita de folha de

flandres, denominadas de Skol pilsen. A partir da década de 80 várias microcervejarias foram abertas, ampliando os estilos de cervejas. Em 1980 surge a Cervejaria Kaiser, em Divinópolis (MG) e em 1989 a Primo Schincariol passa a produzir cerveja no interior de São Paulo. A fusão entre as Companhia Antarctica Paulista e a Companhia Cervejaria Brahma que ocorreu em 1999, surge a AmBev – Companhia de Bebidas das Américas. A criação da AmBev e sua fusão com a belga Interbrew, com o nome de InBev, a partir de 2004, tornou-se a maior produtora do mundo (MORADO, 2009), que resultou a junção com a americana Anheuser-Busch em 2008 consolidando na maior cervejaria do mundo AB-InBeV.

3.2.3 MATÉRIAS PRIMAS

3.2.3.1 ÁGUA

A composição iônica da água usada para a preparação do mosto exerce influência crucial no sucesso do processo cervejeiro. Para um ótimo desempenho do processo de forma a manter a maior qualidade do produto, processo cervejeiro de diferentes estilos de cerveja requer água com um particular espectro iônico. Então, disponibilidade de local apropriado de fornecimento de água conta com o aumento da proeminência dos mais famosos centros de excelência cervejeira. Para muitas cervejarias, particularmente aquelas que usam processos tradicionais de composição de fontes de água locais esta matéria prima continua a ser de suma importância como é usada sem a modificação da composição iônica. No entanto, em muitas plantas modernas isto é irrelevante quando é usual a desmineralização da água cervejeira, adicionando-se sais para fornecer a composição iônica desejada. Isto permite às pequenas cervejarias produzir água apropriada para qualquer estilo de cerveja (BOULTON; QUAIN, 2006).

Os íons na água cervejeira têm papéis vitais em vários estágios envolvidos na formação do mosto; eles contribuem para a nutrição da levedura, influenciam as propriedades tecnológicas da levedura e tem impacto no flavor da cerveja. Íons chave como magnésio, cobre, ferro, devem estar presentes em concentrações suficientes para exercerem efeito positivo, mas não tão altos para causar inibição ou flavors indesejáveis. Os íons chave mais importantes devem apresentar quantidades balanceadas. Em consideração para a produção do mosto o requerimento mais significativo é a regulação do pH, especialmente

durante mosturação, e em uma menor extensão durante a fervura. É essencial manter baixo o pH para eficiente quebra do amido e proteólise durante mosturação (trituração). A água cervejeira deve atender aos padrões de pureza com respeito à contaminação, principalmente em relação às questões microbiológicas e químicas. Por isso, fontes de água municipais são usadas, porque os padrões são garantidos pela legislação. Para prevenir a poluição de águas, quando necessário, a água cervejeira deve ser tratada para remover contaminantes orgânicos e ocasionalmente trata-la para reduzir desenvolvimento bacteriano (BOULTON; QUAIN, 2006).

3.2.3.2 MALTE

Os maltes são produzidos a partir de grãos de cereais selecionados, usualmente cevada, mas às vezes podem ser obtidos de trigo, de centeio, de aveia, de sorgo ou de milho os quais são limpos e armazenados até termino do período de dormência, sendo então germinados sob condições controladas. Maltes pale, ou brancos, são aquecidos usando baixas temperaturas na qual a sobrevivência das enzimas é considerável, já nos maltes escuros, ou maltes coloridos, em que há a utilização de altas temperaturas são utilizadas no processo de preparação, a sobrevivência destas enzimas é menor (BRIGGS et al., 2004). Existem vários tipos de maltes que podem ser produzidos alterando as características da cevada escolhida para malteação ou pela alteração de suas etapas de preparação, como a umidade e temperatura no processo de maceração, germinação e secagem (ZSCHOERPER, 2009).

A principal razão do uso do malte de cevada ser utilizado para qualquer processo de obtenção de bebidas é o seu alto poder diastásico, ou seja, a alta atividade enzimática ou a alta atividade da invertase do grão (OETTERER, s.d).

As enzimas presentes no malte são a alfa amilase, beta amilase maltase e proteases, tendo a alfa amilase teores de 30 a 60 unidades de dextrinas e o poder diastásico até 250%, enquanto na cevada é de cerca de 50%. Estas enzimas são as responsáveis pela transformação do amido presente no próprio malte e originalmente na cevada em açúcares para a ação das leveduras e produção de álcool (OETTERER, s.d).

De acordo com a Portaria nº 166 de abril de 1977 do Ministério da Agricultura, no Brasil podem ser utilizados quatro tipos de malte: tipo Pilsen, tipo Munique, tipo Caramelo

e tipo Preto ou torrado (BRASIL, 1977). O malte tipo Pilsen é o mais comum de se encontrar, além da possibilidade de produção de todos os estilos de cerveja a partir dele (ZSCHOERPER, 2009). Já o malte Munique é escuro, produzido a partir de cevada com alto teor proteico, com germinação mais intensa e em altas temperaturas (KUNZE, 1999), sendo utilizadas para cervejas tipo Scottish Ales, Dark Lagers, e outras em que se deseja obter aroma maltado acentuado (ZSCHOERPER, 2009).

O malte caramelo possui uma grande gama de cores (ZSCHOERPER, 2009), as quais são obtidas pelo aumento da temperatura no final da germinação. Isto tem como objetivo acelerar a atividade enzimática e a quebra dos compostos que ao longo da secagem vão sofrer reações resultando no aumento de cor (KUNZE, 1999), e a partir deste é obtido cervejas em que deseja-se obter aromas caramelo (ZSCHOERPER, 2009).

Segundo Kunze (1999), o malte tipo preto ou torrado é usado na produção de cervejas escuras, o qual é obtido pela torrefação do malte tipo Pilsen em temperaturas de 200°C, por aproximadamente duas horas.

3.2.3.3 LÚPULO

A planta denominada lúpulo (*Humulus lupulus L.*) pertence à família *Cannabaceae* cresce em regiões temperadas do mundo. É usada em processo cervejeiro para fornecer as características de amargor e floral à bebida. Os componentes ativos do flavor do lúpulo são resinas e cones de bracteólas da planta feminina. Os cones são colhidos e estes são referidos como lúpulo na indústria cervejeira. No processo tradicional de colheita e separação dos cones de lúpulo estes são secados. O mais comum, são eles serem secos em um forno para obter um conteúdo de umidade inferior a 12%. Em seguida são embalados em baldes, ou como no Reino Unido em sacos alongados, chamados pockets, para a entrega nas cervejarias (BOULTON; QUAIN, 2006).

A característica de amargor do lúpulo é devido à presença do conteúdo de alfa-ácidos, também conhecidos como humulonas. Os três alfa-ácidos mais importantes são humulona, cohumulona e adumulona. O conteúdo de alfa-ácido é característico de variedades particulares de lúpulo e varia entre 2 e 15% do peso do cone do lúpulo. Durante a fervura os alfa-ácidos sofrem isomerização para gerar as formas cis e trans das humulonas. É isto que confere a característica de amargor à cerveja. Em adição, os iso-alfa-

ácidos tem propriedades antissépticas e cervejas amargas mantêm muito melhor suas propriedades bacteriostáticas do que as cervejas tipo ale não amargas (BOULTON; QUAIN, 2006).

A fração oleosa do lúpulo conta com 0,05 a 2% do peso do cone. Esta compreende uma mistura complexa de mais de 250 componentes que tem aromas e gostos subletais floral, picante, cítrico e éster. Variedades de lúpulo que são ricos em óleos essenciais do lúpulo são frequentemente referidos como lúpulos aromáticos. Estas variedades não podem ser usadas na fervura já que estes óleos são voláteis. Então, eles são adicionados ao longo do tempo de fervura ou possivelmente na pós-fermentação, conhecido como lupulagem seca (BOULTON; QUAIN, 2006).

Produtos derivados do lúpulo estão em uso pois melhoram as qualidades amargas, promovem formação de espuma, e um potencial reduzido de gerar sabores adversos devido a interações com a luz (KEMBER, 1990; BRADLEY, 1997).

3.2.3.4 LEVEDURA

Lodder (1970) descreveu as células de *Saccharomyces cerevisiae* como sendo esféricas, subglobosas, ovoide, elipsoide ou cilíndrica a alongada, que podem ser encontradas sozinha ou em pares, ocasionalmente em cadeias curtas ou clusters. As células podem ser agrupadas em três classes de acordo com o tamanho. O tipo largo, mede entre 4,5 e 10,5, x 7,0 – 21,0 μm (micrometros). Um tipo de célula pequena está em torno de 2,5 – 1,0 x 4,5 – 11,0 μm e um grupo intermediário com células medindo 3,5-8,0 x 5,0-11,0 μm . Muitas leveduras podem formar filamentos que podem passar de 3 (centímetros de comprimento). Células de levedura cervejeira cabem em qualquer uma dessas categorias, no entanto, elas tendem a ser células quase largas (BOULTON; QUAIN, 2006).

As cervejas “Lagers” ou de baixa fermentação são produzidas com levedura floculante que passaram a ser utilizadas e denominadas apenas há 150 anos, o que praticamente domina o mundo (VIRKAJÄRVI, 2001), sendo a representante mais conhecida as cervejas tipo Pilsen.

O significado de tamanho celular de uma cepa particular de levedura não é uma constante, mas varia de acordo com o estágio do ciclo de crescimento, as condições de crescimento e a idade da célula individual. Hartwell e Unger (1977) concluíram que ocorre

um aumento no volume celular durante a fase em que a célula está terminando o brotamento. De fato, o volume celular decresce por aproximadamente um terço durante a fase de brotamento. Apesar das mudanças no volume, previsivelmente, também, há oscilações associadas ao ciclo celular e na massa celular (BOULTON; QUAIN, 2006).

As leveduras cervejeiras podem utilizar uma grande variedade de carboidratos; no entanto, há uma variabilidade entre as cepas individuais. Cepas “Ale” de *S. cerevisiae* são capazes de fermentar glicose, sacarose, frutose, maltose, galactose, rafinose, maltotriose e ocasionalmente trealose. Cepas “lager” de *S. cerevisiae* são distinguíveis por serem capazes de também fermentar o dissacarídeo melibiose. *S. cerevisiae* var. *diastaticus* pode utilizar dextrinas (BOULTON; QUAIN, 2006).

A sacarose é utilizada primeira e a hidrólise resultante causa um aumento transiente na concentração de frutose. Frutose e glicose são usadas quase que simultaneamente, desaparecendo do mosto em torno de 24h. Após a complementação da assimilação de glicose inicia-se o consumo de maltose, o açúcar em maior quantidade no mosto. Maltotriose é utilizada em seguida à assimilação de toda a maltose. Polissacarídeos superiores, como as dextrinas, não são utilizados pelas leveduras cervejeiras, mas estes contribuem para o flavor e corpo da cerveja (BOULTON; QUAIN, 2006). Alguns cuidados devem ser tomados quando se deseja utilizar as dextrinas, por via que poderia ser introdução de enzimas apropriadas ou por manipulação genética (TUBB et al., 1981; GOODEY; TUBB, 1982; VAKERIA; HINCHLIFFE, 1989; LANCASHIRE et al, 1989; HANSEN; ROCKEN; EMEIS, 1990) ou ainda as dextrinas serem hidrolisadas a açúcares assimiláveis pela adição no mosto de enzimas exógenas como por exemplo as dextrinases comerciais (BOULTON; QUAIN, 2006).

Vários artigos indicam que os íons metálicos podem moderar os efeitos inibitórios do etanol (BOULTON; QUAIN, 2006). Dombek e Ingram (1986) observaram que o meio preparado com glicose e suplementado com 0,5mM de magnésio resulta em um crescimento exponencial prolongado, e em uma menor redução na taxa de fermentação, quando comparada com o controle que não foi suplementado.

O mecanismo pelo qual os íons metálicos aliviam a toxicidade do etanol não é bem conhecido. No entanto, o magnésio em particular é um cofator para numerosas enzimas, incluindo várias envolvidas na glicólise. Além do mais, cátions divalentes podem competir

pelos sítios de ligação com o magnésio. O conteúdo de íons metálicos do mosto vai depender da composição mineral da água cervejeira, bem como dos metais remanescentes de outras matérias primas. Em adição, agentes quelantes no mosto vão servir para modular as concentrações de metais disponíveis para as leveduras (BOULTON; QUAIN, 2006).

A habilidade da levedura de resistir a altas concentrações de etanol é, obviamente, a chave para o sucesso da fermentação, particularmente no caso de processo cervejeiro de alta gravidade que utiliza mostos muito mais concentrados. Um número de fatores pode ser considerado como contribuintes para a tolerância ao etanol: componentes genéticos; toxicidade do etanol (ou intermediários); influência de meio físico; influência de condição fisiológica da levedura; influência da composição do mosto (BOULTON; QUAIN, 2006).

Cepas cervejeiras consideradas de tolerância moderada ao etanol são aquelas que durante as fermentações alcançam mais de 8% v/v de etanol. Os casos mais extremos são as leveduras utilizadas para a produção de sake, que produzem mais de 20% v/v de etanol (BOULTON; QUAIN, 2006).

Essas classificações consideram que o etanol é inibidor ou tóxico para as células de levedura, ou pelo menos, influenciam no metabolismo necessário para um bom desempenho da fermentação. A tolerância ao etanol pode refletir diferenças na habilidade das cepas de levedura em fermentar mostos muito concentrados. Assumindo que o etanol exerce efeitos tóxicos nas células de levedura é provável que as condições do meio físico como temperatura, pressão e pH vão regular a severidade dos efeitos (BOULTON; QUAIN, 2006).

Os elementos puramente genéticos da tolerância ao etanol, se eles existem, vão ser modificados pelos fatores fenotípicos. A condição da colocação da levedura é conhecida por influenciar o desempenho da fermentação e, portanto, é provável que a tolerância ao etanol pode também ser afetada. Em particular, a habilidade da levedura a tolerar o estresse é modulada pela condição fisiológica. Mais modificações para o fenótipo da levedura são possíveis devido a composição do mosto (BOULTON; QUAIN, 2006).

3.2.3.5 ADJUNTOS

Os adjuntos, ou agente secundários cervejeiros, são definidos como qualquer fonte de açúcar fermentável que é usado no processo cervejeiro e não é derivado diretamente de

cevada maltada. Eles são largamente usados em todos os países, no entanto a lei de pureza alemã, a *Reinheitsgebot*, proíbe seu uso em cervejas para consumo doméstico (BOULTON; QUAIN, 2006). Os adjuntos podem ser usados simplesmente como fontes de açúcares fermentescíveis, já que custam mais barato que o malte. Também são usados para contribuir com a coloração e flavor e podem também ser adicionados para melhorar as características da espuma (BOULTON; QUAIN, 2006).

O uso do adjunto na cerveja resulta em um produto com alta estabilidade física, melhor resistência ao resfriamento e maior brilho. A maior estabilidade física se deve ao fato de que os adjuntos contribuem muito pouco com material proteico para o mosto e a cerveja, o que é vantajoso em termos de estabilidade coloidal. Adjuntos à base de arroz e milho praticamente não contribuem com proteínas solúveis para o mosto, enquanto outros adjuntos, como cevada ou trigo possuem altos teores de proteínas solúveis. Além da cevada, que contribui muito com o teor de compostos fenólicos (em torno de 0,97 a 1,02mg/Kg) da cerveja (BEZERRA et al, 2013), a casca in natura do pinhão apresenta uma grande quantidade de fenólicos (4,19875mg/Kg) e, com o cozimento, esses compostos migraram da casca (1,21575mg/Kg) para a água de cozimento ou incorporados no endosperma cozido (2,9376mg/Kg) (DAROLT; HELM, 2012).

Os adjuntos podem ser usados para ajustar a fermentabilidade do mosto. Muitos cervejeiros adicionam açúcar ou xarope diretamente na tina como uma maneira efetiva de se ajustar a fermentabilidade, obtendo melhores resultados do que quando se altera o tempo/temperatura de mosturação (BOTELHO, 2009).

O adjunto deve produzir açúcares fermentescíveis e dextrina não fermentescíveis em proporções semelhantes às que se obtém em um mosto feito exclusivamente com malte, e com o mínimo incremento possível de proteínas solúveis. O limite máximo de adjunto na formulação da cerveja é determinado pela capacidade das enzimas do malte hidrolisarem todo o amido contido nas matérias-primas e pela capacidade do malte de prover a levedura de nutrientes, principalmente o nitrogênio (BOTELHO, 2009).

De acordo com a legislação brasileira, o nível de substituição do malte pelo adjunto pode chegar a 80%. Não há regra geral com relação à utilização de adjunto; cada cervejaria deve definir a proporção de malte/adjunto para cada tipo de cerveja que produz (VENTURINI FILHO; CEREDA, 1998).

O adjunto, quando utilizado em excesso, pode causar alguns problemas, tais como, mosto com baixo teor de nitrogênio, prejudicando o metabolismo da levedura; elevada viscosidade, retardando a filtração; e cerveja “aguada” e com baixa qualidade de espuma (BRADEE, 1977).

Os adjuntos são encontrados na forma sólida e líquida. Os adjuntos sólidos requerem algum processamento e são usualmente incorporados na mosturação ou fervura. Adjuntos líquidos podem ser adicionados durante a fervura, ou ainda após a fermentação primária na forma de “primings” para fornecer açúcar fermentável para fermentações secundárias, ajuste da doçura da cerveja e ainda promover a formação de CO₂ na garrafa (BOULTON; QUAIN, 2006).

Os adjuntos sólidos, comumente usados pelas cervejarias são cevada, trigo, milho, arroz e tritcale. São encontrados de diversas formas no mercado. Por exemplo, na forma de flocos secos, como grão moído, na forma micronizada ou torrefada (produto do rápido aquecimento de grãos de cereais), como farinha (farinha de trigo cervejeira) e como “grits” os quais são subprodutos do processamento de cereais e consistem principalmente de endosperma. A última categoria é comumente usada quando os adjuntos são de arroz e de milho. A parte chave do processo de maceração é submeter o malte e as outras fontes de cereais do extrato a um aquecimento durante o qual os grãos de amido são gelatinizados e, portanto, fazem acessível a degradação enzimática. Em um regime típico de mosturação esta degradação é ativada com a temperatura entre 63 e 65°C (BOULTON; QUAIN, 2006).

Dentre os adjuntos mais utilizados na indústria cervejeira brasileira, destacam-se a quirera de arroz (grão partido), por possuir menor custo e conter alto teor de amido; e o milho moído desgerminado, conhecido comercialmente como gritz. Esses propiciam a produção de cervejas mais doces e encorpadas. A partir desse polissacarídeo, as enzimas presentes, após a preparação do malte de cevada, atuarão levando à formação de carboidrato fermentescível (VENTURINI; CEREDA, 2001).

Pode-se também, utilizar outros cereais malteados ou não para a produção de outras cervejas, podendo ser tanto em grandes ou pequenas quantidades como milho, centeio, arroz, sorgo e aveia. Em relação ao último caso, ao se empregar a aveia, observará uma maciez de seda; em relação ao milho, esse acarreta à cerveja características mais claras e

luminosas; já o uso do centeio proporciona um gosto mais temperado (JACKSON, 2010; TSCHOPE, 2001).

São muito comuns, e já aceitas pelo consumidor, cervejas feitas com a adição de trigo, arroz ou milho. Também já estão no gosto popular, especialmente no Brasil, aquelas às quais se adiciona corante caramelo para torná-las escuras, como é o caso das cervejas pretas e dos chopes escuros, e da popular Malzbier (MORADO, 2009).

Na forma líquida os adjuntos são encontrados no mercado como xaropes concentrados, acima de 65°Brix (BOULTON; QUAIN, 2006).

Adjuntos não convencionais são considerados cereais diferentes daqueles empregados frequentemente na produção de cervejas, podendo-se citar arroz preto, bem como outras fontes de carboidratos, como pseudocereais, como amaranto, trigo sarraceno, quinoa, entre outros, que são frutos na forma de grãos e que apresentam características de cereais, por isso sua nomenclatura (HENDGES, 2014).

A exploração da utilização destes adjuntos considerados não tradicionais tem sido o foco das pesquisas realizadas na Planta Piloto de Bebidas da Escola de Engenharia de Lorena.

Andrade (2007) avaliou a produção de cerveja utilizando arroz preto como adjunto, em proporções que variaram entre 10 a 45% (m/m), tendo verificado que a recuperação em extrato foi semelhante para todas as condições avaliadas, quando comparadas a condição controle, utilizando puro malte. O autor observou que a fermentabilidade do mosto e a formação de etanol foi semelhante para todas as condições estudadas, variando entre 49 e 52% e 4,24 e 4,95% v/v, respectivamente. De acordo com o autor, o perfil do processo, com relação ao consumo de substrato, pH, crescimento microbiano, formação de etanol foi semelhante para todas as condições avaliadas. Santos (2011) também realizou estudos sobre a produção de cerveja utilizando arroz preto como adjunto, na proporção de 45% m/m e realizou pré-tratamento térmico para a hidrólise enzimática do arroz, porém utilizou enzimas industriais, uma vez que o arroz não passou pelo processo de maltagem. O autor observou aumento da fermentabilidade do mosto obtido com arroz preto como adjunto, de aproximadamente 68%, quando comparado ao resultado obtido por Andrade (2007), que observou uma atenuação de aproximadamente 50%, porém sem pré-tratamento térmico e sem utilização de enzimas exógenas. O teor alcoólico obtido por Santos (2011) foi de

5,35% v/v e o pH da cerveja foi de 4,5, que segundo o autor se encontra dentro da faixa característica da bebida, sugerindo que o arroz preto tem potencial de aplicação tecnológica na produção de cerveja. O autor também constatou que a aceitabilidade sensorial da cerveja, contendo 45% de arroz preto como adjunto, foi elevada, onde mais de 80% dos avaliadores relataram que comprariam a cerveja.

Carvalho (2009) estudou a produção de cerveja contendo banana como adjunto, tendo elaborado suco de banana utilizando pré-tratamento térmico com enzimas exógenas, para liquefação do amido presente na fruta. Um mosto puro malte com concentração em extrato de 11°P foi produzido, sendo, então, adicionado o suco de banana, em quantidade necessária para obtenção de um mosto com concentração de extrato primitivo de 17,5°P. Após a fermentação o autor observou que a concentração de etanol obtido foi de 4,7g/L, o que representou um rendimento em etanol de 0,45g/g, superior ao obtido por Dragone (2007), de 0,4g/g, quando este realizou o estudo com a produção de cervejas em processo *high gravity* com mosto com concentração inicial de 17,5°P. O autor constatou, por meio de análise sensorial, que a bebida obtida contendo banana como adjunto foi estatisticamente preferida em relação às cervejas presentes no mercado.

Dragone (2007) publicou estudos com fermentação primária para produção de cervejas de altas densidades por processo contínuo utilizando leveduras imobilizadas em bagaço de malte. Teste triangular (análise sensorial) foi aplicado para avaliar a diferença de sabor entre esta cerveja e uma cerveja comercial do mercado brasileiro elaborada pelo processo descontínuo, e, entre os 30 provadores, apenas dois escolheram a resposta incorreta (a 0,1% de probabilidade).

A quinoa foi estudada por Hendges (2014) e a avaliação sensorial das diferentes bebidas obtidas, puro malte, e contendo quinoa malteada como adjunto em diferentes proporções, constatou-se que a aceitação foi semelhante para todas as amostras, quando comparadas a uma amostra de cerveja comercial, e as notas atribuídas foram compreendidas entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. A fermentação do mosto em escala piloto contendo 45% em massa de quinoa malteada, como adjunto, foi avaliada, e foi verificando que as características de pH, de atenuação aparente, de número máximo de células em suspensão e de rendimento em etanol (0,39g/g) foram semelhante às demais condições de bancada avaliadas.

Curi (2006) estudou a utilização de cevada (não malteada) como adjunto de malte, e numa segunda fase, utilizando maltose de milho (40%), tendo as fermentações ocorridas na temperatura de 10°C. Já Venturini Filho e Cereda (1998) utilizaram hidrolisado de milho e hidrolisado de mandioca como adjuntos (na proporção 1:2)

O trabalho realizado por Brunelli (2012) produziu e caracterizou físico-quimicamente, energeticamente e sensorialmente cervejas elaboradas com mel. Os ensaios de produção de cerveja foram feitos com nove tratamentos, combinação de três concentrações de extrato original no mosto (11, 13 e 15 °Brix) e três porcentagens de mel na formulação do mosto (0, 20 e 40%). Os resultados dos testes sensoriais (escala hedônica) mostraram que a presença de mel na formulação das cervejas comum (11°Brix) e extra (13°Brix) não interferiu na aceitação dos provadores para todos os atributos sensoriais avaliados. Entretanto, as cervejas fortes (15°Brix) com mel em sua composição obtiveram maior aceitação dos provadores.

Outros estudos utilizando o caldo ou xarope de cana de açúcar, café, laranja e soro de leite, estão em andamento na Planta Piloto de Bebidas de Lorena.

Assim, como para os adjuntos considerados convencionais, observa-se uma nova tendência na produção de cervejas, a qual visa o estudo da completa substituição do malte por adjuntos não convencionais, malteados ou não, para a produção de novos tipos de cerveja ou uma nova bebida carbonatada.

3.2.4 PRODUÇÃO DE CERVEJA

A maioria dos estágios que juntos compreendem o processo cervejeiro para uma cerveja produzida pelo processo tradicional em batelada e empregando pinhão como adjunto está descrito a seguir. O processo consiste de três fases: manufatura e processamento do mosto, fermentação e pós-fermentação. Cada uma dessas fases contém várias etapas distintas. Os detalhes precisos de cada passo dependem, a uma certa extensão, da natureza da cerveja que está sendo produzida e da planta usada (BOULTON; QUAIN, 2006).

As matérias primas para a produção do mosto são água, malte, lúpulo e, possivelmente, adjuntos (BOULTON; QUAIN, 2006).

3.2.4.1 MALTEAÇÃO

Vários cereais podem ser malteados, no entanto, no processo aqui descrito trata-se da malteação da cevada. No processo de malteação o grão de cevada é estimulado para germinar (BRIGGS et al., 2004), umedecendo os grãos (maceração). Na fase subsequente, as enzimas dos grãos são ativadas de forma a disponibilizar as reservas de amido para fornecer carbono e energia para o desenvolvimento do embrião. Em um ponto apropriado o processo de germinação é aquecido pela injeção de vapor, denominado forneamento. Esta etapa estabiliza o grão, já que no malte as enzimas relevantes e materiais de reserva estão disponíveis para subsequente extração e degradação para liberar mais açúcares fermentáveis durante a produção do mosto (BOULTON; QUAIN, 2006).

A maltagem ocorre em três etapas, maceração, germinação e secagem. A primeira consiste no fornecimento de oxigênio e água ao grão, despertando sua dormência, predispondo-o para a etapa seguinte, que é a germinação. Esta fase demora de 6 a 12 horas (MORADO, 2009). Fisicamente, durante a germinação, ocorre a formação de radículas e da acrospira (precursora da primeira folha). Quimicamente, se dá a formação das enzimas que irão quebrar o amido e as proteínas no ponto adequado para o início da produção da cerveja. Esta etapa pode ser administrada de forma a obter vários tipos de malte, como o pilsen, caramelo, chocolate, etc. A germinação dura de 5 a 6 dias (MORADO, 2009). Durante a secagem as radículas são eliminadas, ocorrendo nesta etapa a formação dos aromas típicos do malte e, dependendo da intensidade e dos graus de secagem e torrefação, o malte adquire colorações e aromas que vão desde o neutro até o café, passando pelo caramelo, o chocolate e o torrado. Também tem importância pelo fato de conservar o malte, pois, eliminando-se a umidade, diminui-se o risco de mofo, e também favorece a estocagem, uma vez que o malte se torna mais leve (MORADO, 2009).

Variedades particulares de cevada (*Hordeum disticum* e *H. vulgare*) são cultivadas especialmente para malteação. As propriedades-chaves são: habilidade para germinação com um dado período de tempo; a de possuir resistência a doenças e, a mais importante, formação de um grão contendo um balanço apropriado de amido e de nitrogênio, sendo preferencialmente que o conteúdo de nitrogênio seja baixo (BOULTON; QUAIN, 2006).

O endosperma do grão de cevada consiste de uma mistura de proteínas, os quais os grãos de amido estão embebidos. O amido corresponde a 55-65% do peso total do grão.

Mais de 75-80% do amido está na forma de polímero branqueado, amilopectina (D-glicose, ligações α -(1 $\rightarrow$ 4) e α -(1 $\rightarrow$ 6)), e 20-25% de amilose (D-glicose, apenas ligações α -(1 $\rightarrow$ 4)) (BOULTON; QUAIN, 2006).

O grão de cevada contém muitos outros componentes que contribuem para composição do mosto incluindo sacarose, vitaminas, minerais, polifenóis, nucleotídeos e lipídeos. Muitos componentes tem o potencial de resultar em problemas durante a produção do mosto. Por exemplo, o endosperma da cevada maltada contém aproximadamente 4% de β -glucanas, as quais podem ser degradadas durante malteação, desde que as β -glucanases da cevada sejam termolábeis e sejam inativadas durante a mosturação. Uma falha na degradação de β -glucanas resulta em mostos de alta viscosidade, o que pode causar problemas no escoamento durante a filtração. Variedades de cevada contendo grandes quantidades de β -glucanas são indesejáveis para processos cervejeiros (BOULTON; QUAIN, 2006).

3.2.4.2 MACERAÇÃO/TRITURAÇÃO

A maceração é realizada por uma grande variedade de formas dependendo da sofisticação dos maltes. É uma prática comum embeber os grãos de cevada em água, e permanecer por longos períodos em exposição ao ar. A água de maceração pode conter biocidas para minimizar o crescimento microbiano de superfície. Durante a maceração o conteúdo de água dos grãos de cevada aumenta entre 42-45% e então, inicia-se a germinação, chamada embrionagem. A água de maceração, a qual é removida dos grãos de cevada, contém vários taninos, os quais podem transmitir impurezas amargas nas cervejas. A exposição do embrião à umidade estimula a formação do hormônio vegetal ácido giberélico. Este é transportado para a membrana do aleurona, o que estimula a ativação das enzimas que degradam o endosperma (BOULTON; QUAIN, 2006).

Durante o estágio de germinação, o crescimento da cevada é mantido em um leito em que é lentamente revirado para manter a homogeneização de umidade e calor de cada grão, e para facilitar a germinação. A umidade é mantida e a temperatura controlada entre 13 e 16°C necessitando de resfriamento porque a germinação é exotérmica. Durante germinação endoglucanases, pentosanases, endoproteases e amilases são liberadas da membrana aleurona e vagarosamente perfuram e degradam a estrutura celular do

endosperma, sendo liberadas do grão de amido. Na germinação, 75% de β -glucanas e 40% de proteína do endosperma estão solubilizadas. Apenas 10% do amido é degradado, deixando a maior parte inteira para extração durante a produção do mosto (BOULTON; QUAIN, 2006).

Após a germinação, o malte é submetido a secagem em um processo denominado forneamento o qual deve ser aquecido suavemente de modo a prevenir inativação das enzimas do malte, que são necessárias durante a preparação do mosto. Tipicamente, as temperaturas são aumentadas vagarosamente de 25 a 30°C para 60 e 70°C. Durante este período o sistema é aerado através do leito de malte para facilitar a remoção de umidade e consequentemente o conteúdo de água é gradualmente reduzido para aproximadamente 4%. O forneamento serve para proporcionar ao malte uma forma estável, e permite que seja estocado por longos períodos e também para reduzir o crescimento microbiano superficial. Algumas reações de flavor (aroma e sabor) e de cor ocorrem, as quais contribuem para a qualidade da cerveja (BOULTON; QUAIN, 2006).

O malte é estocado em silos, na malteria ou na cervejaria. Sobre o consumo de pó de malte, o malte é distribuído no ar e pode ser muito bem a principal fonte de microrganismos específicos da cervejaria (BOULTON; QUAIN, 2006).

3.2.4.3 PRODUÇÃO DO MOSTO

O primeiro estágio do processo cervejeiro propriamente dito é a preparação do mosto. Os passos envolvidos são: (1) moagem, em que o malte e outras fontes sólidas do extrato são convertidos em uma farinha grossa conhecida como grits; (2) “mosturação” em que o grits é suspenso em água e aquecido para preparar um extrato aquoso e finalmente (3) o estágio de separação, em que as cascas do malte são removidas para clarificação parcial do mosto (BOULTON; QUAIN, 2001).

A quantidade do material entregue para moagem é calculada para produzir um volume apropriado de mosto com uma concentração de açúcar, conhecida no processo cervejeiro como extrato original, expresso em graus Plato (°P) (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010). Em adição ao malte, outros adjuntos sólidos podem ser incluídos; alternativamente, os adjuntos sólidos que não requerem moagem são adicionados ao “grits” após a moagem tendo como função fornecer os conteúdos do endosperma da casca do malte

e para reduzir a mistura a um tamanho de partícula que forneça operação ótima durante o estágio de mosturação, pois se um tamanho de partícula é muito grande a degradação enzimática é ineficiente e, se um tamanho das partículas é muito pequeno dificulta a separação do mosto. A moagem pode ser úmida ou seca dependendo da composição do “grits” e das preferências das cervejarias (BOULTON; QUAIN, 2006).

Durante a mosturação o “grits” é suspenso em água e a mistura aquecida. Muitos dos componentes do mosto surgem durante este tempo de aquecimento da solução simples. Outros, são formados como resultado de reações entre as enzimas derivadas do malte e seus substratos, o que se torna possível por causa da provisão de ambiente aquoso na presença de uma combinação apropriada de pH, de temperatura e de íons. A temperatura elevada gelatiniza os grânulos de amido, então eles se tornam susceptíveis ao ataque das amilases. As enzimas α e β -amilases do malte estão ativas durante mosturação, no entanto são mais termolábeis e sua atividade não persiste por longo tempo em altas temperaturas de mosturação (BOULTON; QUAIN, 2006).

Diferentes temperaturas são utilizadas durante a mosturação para ativação de enzimas (MORADO, 2009). Entre 40 e 45°C ocorre a ativação enzimática, os grãos de amido começam a se solubilizar e as enzimas contidas no malte começam a entrar em solução, a exemplo das betaglucanas e endoglucanases, que irão facilitar a solubilização futura do amido. Entre 50 e 55°C acontece o repouso proteolítico, etapa em que se dá a quebra de algumas proteínas do malte, formando proteínas menores (peptídeos) e aminoácidos. Nesta etapa, é possível controlar a espuma e o brilho da cerveja. Como os grãos de amido inicialmente estão envoltos em uma malha que contém proteínas, a ação das enzimas proteolíticas pode favorecer um pouco mais a exposição do amido ao ataque das enzimas da sacarificação. Entre 60 e 72°C, duas enzimas atuam, as alfa-amilases e beta-amilases, cada uma atuando de modo diferente na estrutura do amido e com temperaturas ótimas situadas em pontos diferentes. Regulando a ação destas enzimas é possível determinar o corpo da cerveja (MORADO, 2009).

Entre as temperaturas de 76 e 78°C, as enzimas perdem sua atividade, sendo necessário cessar sua atividade para estabilizar o resultado desejado, impedindo que continuem a atuar durante a filtração do mosto (MORADO, 2009).

Ainda, de acordo com Tschope (2001), a Tabela 2 mostra a temperatura e pH de atuação das enzimas do malte.

Tabela 2 - Temperatura e pH de atuação das enzimas do malte

Enzimas	Temperatura ótima (°C)	pH ótimo	Atuação
Hemicelulases	40 a 45	4,5 a 4,7	Hemicelulose
Exopeptidases	40 a 50	5,2 a 8,2	Proteínas
Endopeptidases	50 a 60	5,0	Proteínas
Dextrinase	55 a 60	5,1	Amido
Beta-amilase	60 a 65	5,4 a 5,6	Amido
Alfa-amilases	70 a 75	5,6 a 5,8	Amido

Fonte: Tschope (2001)

Mais de 35-40% das proteínas do malte são solubilizadas durante mosturação, dependendo da temperatura e do pH. No entanto, proteases do malte são termolábeis e então mais solubilização de proteína ocorre durante malteação do que na mosturação. Baixas temperaturas de mosturação favorecem grandes concentrações de nitrogênio solúvel total no mosto (BOULTON; QUAIN, 2006).

Diferentes sistemas de mosturação são usados dependendo do tipo de cerveja produzida. Fermentações para cervejas tipo “Ale” geralmente a mosturação é conduzida em temperatura única, usualmente 65°C, é empregada em um processo referido como mosturação por infusão. Cada método exige os lúpulos mais altamente modificados, que tendem a ser usados para a produção de mostos para cervejas tipo “Ale” (BOULTON; QUAIN, 2006).

No caso das cervejas tipo “Lager” é necessário usar uma temperatura inicial relativamente baixa para promover proteólise seguida de uma alta temperatura, para gelatinização do amido e ataque amilolítico. Em processos adicionais isto é ativado pelo processo chamado mosturação por decocção em que proporções sucessivas do mosto são removidas e fervidas e então retornam quando aumenta gradualmente a temperatura do mosto. Uma das desvantagens deste método é que os passos da fervura desnaturam uma proporção significativa das enzimas do malte. Um método alternativo e largamente adotado é a mosturação com temperatura programada em que a temperatura é gradualmente aumentada em uma série de passos para permitir progressiva degradação enzimática de

proteínas e de carboidratos (BOULTON; QUAIN, 2006). O mosto é um líquido claro, que usualmente contém uma pequena proporção de precipitados suspensos, é o extrato aquoso de cevada maltada e outras fontes de extratos, conhecido como “mosto doce”. O mosto amargo quando fervido com lúpulo durante a preparação do mosto forma o “trub”, que é um precipitado, predominantemente composto de proteína e polifenóis, formado durante a fervura e o resfriamento do mosto. Autores como Olsen (1981); Schisler, Ruocco e Mabee, (1982); Lentini et al., (1994) argumentam que um pouco de precipitado é necessário durante fermentação como fonte de lipídeos, especialmente ácidos graxos insaturados, que são essenciais para a nutrição da levedura (SIEBERT et al., 1986).

A composição do mosto é influenciada pela natureza da matéria prima e o manuseio do processo durante a sua preparação. Durante a preparação do mosto, as condições de mosturação e de fervura proporcionam particular significância. Em baixas temperaturas de mosturação, promovem atividade continuada de proteases termolábeis do malte, e então elevam as concentrações de nitrogênio amino. Em altas temperaturas de mosturação favorecem atividade amilolítica a custas de proteólise e em consequência a relação de açúcar fermentável e nitrogênio amino aumenta. As atividades relativas em diferentes temperaturas de mosturação de alfa e beta amilases e o limite de dextrina vão modular o espectro de açúcar do mosto. Além disso, o método de separação do mosto doce das cascas e as condições de fervura vão influenciar na composição precisa do mosto no fermentador (BOULTON; QUAIN, 2006).

A cor é altamente dependente das matérias primas usadas para produção do mosto, e varia entre um marrom muito pálido a quase preto. A viscosidade é dependente do conteúdo de sólidos totais e da concentração de componentes como β -glucanas derivadas do malte (BOULTON; QUAIN, 2006). Dos sólidos dissolvidos no mosto compreendem aproximadamente 90-92% de carboidratos e 4-5% de compostos nitrogenados (MACWILLIAM, 1968). Os remanescentes consistem de uma variedade de compostos orgânicos, os quais contemplam a maioria dos grupos bioquímicos, que previsivelmente podem ser extraídos de células vivas que resistem a condições que persistem durante a preparação do mosto (BOULTON; QUAIN, 2006).

3.2.4.4 FERVURA DO MOSTO

A fervura tem várias funções, dentre as quais esterilizar o mosto e inativar todas as enzimas do malte antes que seja resfriado e adicionado no fermentador. Alfa-ácidos do lúpulo são isomerizados durante esta fase (BOULTON; QUAIN, 2006). A fervura deve ser intensa, pois além de ser responsável pela esterilização do mosto, elimina micro-organismos que poderiam competir com a leveduras pelos nutrientes do mosto. Durante esta etapa é importante boa exaustão dos vapores, para evitar que a condensação os faça retornar ao mosto (MORADO, 2009). É durante esta etapa que ocorre a lupulagem, ocorrendo em duas etapas. A primeira tem por objetivo conferir amargor e a segunda presta-se à adição dos aromas florais, herbais e mesmo condimentados do lúpulo (MORADO, 2009).

O tempo excessivo pode resultar na conversão de alfa-ácidos a ácidos humulínicos, e provocar falta de amargor. Depois que a fervura é completada, sólidos na forma de “trub” e qualquer material em suspensão do lúpulo tem que ser separado do mosto quente, antes que seja resfriado e transferidas para o fermentador (BOULTON; QUAIN, 2006).

O processo de fervura estabiliza o mosto nos aspectos biológico, bioquímico e coloidal, e contribui com o sabor da cerveja, seja pela evaporação de aromas indesejados, ou pelos aromas e pelo amargor obtidos do lúpulo (MORADO, 2009).

3.2.4.5 PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO E MATURAÇÃO

A fermentação da cerveja consiste, basicamente, na transformação pela levedura, de açúcares em dióxido de carbono (CO_2) e de etanol. Vários outros compostos também são formados, como subprodutos do metabolismo da levedura, os quais podem proporcionar aromas agradáveis ou nem tanto. Por isto, procura-se então administrar a fermentação de modo a favorecer a produção e a manutenção dos aromas desejáveis, e a remoção dos indesejáveis, sendo os fatores mais importantes a temperatura de fermentação, a duração, a contrapressão, a escolha adequada da levedura e a quantidade dela a ser empregada (MORADO, 2009).

A fermentação tradicional em batelada, ou processo descontínuo, começa com o enchimento do recipiente de fermentação com o mosto seguido de aeração. No final da

fermentação, o recipiente é resfriado, esvaziado, lavado e sanitizado. Estas operações, quando realizadas em escala industrial, leva de 1 a 2 dias (MORADO, 2009).

Nos primeiros instantes da fermentação a concentração de açúcares é alta, sendo os principais açúcares fermentescíveis presentes no mosto a maltose e a glicose, além de conter oxigênio, que foi utilizado pela levedura como nutriente para sua multiplicação na fase inicial da fermentação. Entre os principais compostos formados na fermentação estão os álcoois superiores, e os ésteres, responsáveis pelas características frutadas que algumas cervejas apresentam (MORADO, 2009).

Uma substância que exerce papel importante na formação e eliminação dos aromas é o diacetil, sendo formado pela levedura ao longo do processo de fermentação, e que uma alta concentração desta substância revela um aroma que lembra manteiga rançosa, e que ao final da fermentação ele é reabsorvido pela levedura. Outro composto que deve ser eliminado são os aldeídos, que conferem ao mosto aroma de legumes cozidos (MORADO, 2009).

Quando a fermentação estiver completa, a cerveja adquire propriedades que tornam a bebida adequada para consumo. Muitas opções são possíveis dependendo do tipo de cerveja. Cervejas sujeitas à fermentação secundária, ou maturação podem simplesmente ser embaladas, tanto em barris como em garrafas. A maioria das cervejas é submetida a processo de pós-fermentação para produzir um produto embalado, que é estável, tanto do ponto de vista microbiológico, físico e de flavor. Os processos de downstream envolvidos incluem condicionamento (ou maturação, envelhecimento), filtração e pasteurização/filtração estéril. No caso de cervejas tradicionais, condicionamento envolve um período de estocagem em que a maturação do flavor requer a presença de células viáveis de levedura (BOULTON; QUAIN, 2006).

3.2.4.6. ENVASE E ACABAMENTO

A fase de embalagem e despacho ao consumidor final é uma etapa crítica para o produto, pois após ele deixar o recipiente, em um ambiente controlado em que foi criado, e exposto ao ambiente externo pode ser agressivo. A assepsia das instalações, dos barris e das garrafas é fundamental para assegurar a qualidade e a estabilidade da cerveja (MORADO, 2009).

Algumas cervejarias utilizam o processo de refermentação na garrafa, da mesma forma que outras o fazem nos barris. O procedimento é o mesmo em ambos os casos, em que ao final da maturação, na etapa de engarrafamento, mais açúcares são adicionados à bebida. Isto serve como uma nova dose de alimento às leveduras que ainda restaram em suspensão, o que provoca uma nova fermentação, que enriquece ainda mais o perfil aromático da cerveja, além de carbonatar e elevar o seu teor alcoólico. Para isto ocorrer, a cerveja não pode ter sido pasteurizada, de forma que contenha suficiente levedura ativa (MORADO, 2009).

Este processo foi uma das primeiras formas encontradas para regular a carbonatação da cerveja, e ainda é bastante comum nos dias de hoje, principalmente nas cervejas belgas mais tradicionais. A presença de certo número de leveduras na garrafa garante cervejas de sabor bastante estável (MORADO, 2009).

3.2.5 CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES

Uma das características mais relevante na avaliação sensorial de uma cerveja é o teor alcoólico, sendo o álcool geralmente não percebido com destaque quando em concentrações inferiores a 6% em volume. Em concentrações baixas, o conteúdo de álcool favorece o sabor e intensifica certos aromas e perfumes. Em quantidades excessivas, prejudica a percepção de todas as características sensoriais, mascarando sabores e cheiros e provocando leves queimações no paladar e no organismo, sobrepondo-se a todos os outros temperos e demais qualidades que poderiam ser apreciadas (MORADO, 2009). Pela legislação brasileira, as cervejas que contêm menos de 0,5% de álcool são denominadas “cerveja sem álcool” não necessitando a inscrição no rótulo do teor alcoólico. De forma geral, são classificadas como cervejas de baixo teor alcoólico as que contiverem entre 0,5 a 2% (v/v); cervejas de médio teor alcoólico aquelas que estiverem entre 2 e 4,5% v/v, e cervejas de alto teor alcoólico as que tiveram mais que 4,5%v/v.

Outra característica é a aparência, determinada pela cor, espuma e transparência, sendo a cor diretamente associada à definição do tipo de cerveja, podendo revelar o tipo de malte utilizado e/ou o seu grau de torrefação. Já a espuma se forma pela dispersão do dióxido de carbono na cerveja, sendo determinada pelo teor de proteínas, pela viscosidade da cerveja, da temperatura e pela pressão durante o processo de fermentação e

acondicionamento até pelas características do copo em que é servido. A espuma também serve para conferir a qualidade da cerveja, pois esta deve ser brilhante, apresentar poros finos, ser mais clara que o líquido. A transparência finaliza a avaliação da cerveja, e não tem relação direta com a cor, sendo relacionada com o processo de filtração (MORADO, 2009).

Entre as características relacionadas ao paladar, o amargor é a que exerce maior influência na cerveja, sendo este amargor medido em IBU (International Bitterness Units). Esta característica é consequência de um grupo de componentes chamados iso-alfa-ácidos, provenientes do lúpulo. Serve como um guia geral para a intensidade do amargor. Cervejas com menos sabor podem apresentar de 10 a 15 IBU, e, acima de 40IBU, a cerveja apresenta um caráter forte de lúpulo (MORADO, 2009).

Ainda que o ser humano seja pouco dotado de perceber odores, há a habilidade de detectar os principais aromas presentes numa boa cerveja. Alguns deles estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Principais aromas encontrados nas cervejas e a causa provável

Aroma	Causa provável	Comentário
Vinho, frutado	Presença de ésteres	Aceitável nas Ale, péssimo nas Lager
Papel/Papelão	Oxidação	Comum nas cervejas com prazo de validade vencido
Sabão	Levedura em mau estado, autólise das células de levedura	Desagradável em qualquer cerveja
Queijo	Lúpulo velho ou conservado inadequadamente	Presente em alguns estilos, normalmente indesejado
Banana, maçã, pera, pêssego	Ésteres provenientes da fermentação	Comum em todas as cervejas, principalmente nas Ale
Leite azedo	Fermentação por bactérias lácticas	Indesejada na maioria dos estilos
Maçã verde	Oxidação ou condições de fermentação inadequadas	Normalmente indesejado quando em excesso
Remédio	Contaminação da água de produção com cloro	Indesejado
Couro	Exposição ao oxigênio, também produzido por leveduras diferentes das típicas de cultivo	Presente em alguns estilos, porém normalmente indesejado
Milho	Fervura do mosto deficiente ou contaminação	Indesejado
Manteiga	Presença de diacetil, composto formado pela levedura durante a fermentação ou eventualmente por microrganismos contaminantes	Aceitável (se leve) nas Ale, péssimo nas Lager
Borracha	Autólise	Indesejado

Fonte: Morado, 2009.

Há também o conceito de “drinkability”, quase subjetivo, que está relacionado à rejeição a uma determinada cerveja e, quando maior esse grau, maior é a sensação de prazer provocada pela bebida, o que pode induzir seu consumo novamente (MORADO, 2009).

Para a degustação, há dois parâmetros fundamentais: a definição do critério de escolha das cervejas e a infraestrutura (local, copos, guardanapos, geladeira, etc.). Para a definição do tipo é relevante ter atenção às características esperadas de cada um, sendo que a avaliação deve corresponder ao estilo analisado, e não ao gosto ou preferência do degustador. Em relação à infraestrutura, os copos devem ser de vidro ou plástico rígido transparentes, limpos e sem odor, em temperatura ambiente, tornando-se inadequado sua realização diretamente na garrafa ou lata. E, para limpar o paladar, deve-se disponibilizar água sem gás e pãezinhos sem sal ou biscoitos tipo cream cracker (MORADO, 2009).

3.2.6 MERCADO DE BEBIDAS

A elaboração de cervejas utilizando adjuntos especiais vem se tornando uma solução de barateamento na obtenção de cerveja devido à substituição de parte do malte, acrescentando, ainda, atributos sensoriais característicos aos produtos obtidos (CARVALHO et al, 2011).

Outro tipo de cerveja que vem se destacando no mercado nacional é a produzida em microcervejarias, acompanhando uma tendência internacional. A cerveja de microcervejaria caracteriza-se por ser um produto mais encorpado e de aroma e sabor mais pronunciados, sendo consumida principalmente por pessoas mais exigentes em termos de qualidade sensorial, que buscam um produto diferenciado, independentemente do preço. Um microcervejeiro geralmente adota como alternativa tecnológica uma escala de produção de até 50.000 litros/ano, ou seja, uma produção mensal média de 4.160 litros (ARAÚJO; SILVA; MINIM, 2003).

De acordo com Morado (2009), há no país aproximadamente 200 microcervejarias que produzem cervejas muito diferentes daquelas que os consumidores consomem por tradição ou preferência.

Mesmo com as grandes cervejarias investindo no mercado de cerveja especial, a produção ainda está concentrada nas pequenas microcervejarias. Dados não consolidados indicam que a participação das cervejas especiais no mercado cervejeiro atingiu

aproximadamente 5,5% em 2008, o que representou um montante de R\$2 bilhões. No entanto, em outras nações latino-americanas, as cervejas gourmet chegam a ocupar uma fatia de 10% do mercado total, enquanto na Europa Ocidental a participação é de quase 50% (GONÇALVES, 2009).

Moura et al. (2009) verificaram alguns fatores nos quais os consumidores acreditam fortemente, e que podem influenciar na escolha e no comportamento de consumo. Entre eles, destacam-se os efeitos colaterais do dia seguinte ao consumo do produto (ressacas, dores de cabeça, diarreias, dor de barriga, tonturas e afins, que os atormentam); a localização da fábrica, que em algumas situações, os consumidores acreditam que o local de fabricação da cerveja e, portanto, a água utilizada na sua fabricação são mais importantes do que a marca da mesma; influências sociais e familiares (maridos, irmãos, pais e amigos são capazes de interferir fortemente no processo de compra e consumo) e beber na companhia de terceiros, a exemplo quando estes gostam de cervejas mais baratas, mas quando estão acompanhados de amigos em um bar ou recebem visitas em casa, muitas vezes compram a marca mais conhecida, ou a que vende mais, ou ainda, compram uma marca conhecida, mas um pouco mais barata para não “passarem vergonha”.

Suzuki (2010) apresenta algumas características que podem ser achadas nas microcervejarias brasileiras:

- Produzem anualmente até 5 milhões de litros;
- Produzem cerveja com teor de malte acima de 80%;
- Fabricam produtos com ingredientes especiais;
- Seguem receitas tradicionais, como a alemã *Reinheitsgebot*;
- A distribuição é de alcance regional e;
- Em sua maioria, são empresas familiares.

Para Morado (2009), o que caracteriza uma microcervejaria é a produção de cervejas que carreguem atributos ligados a região de origem, tradição e qualidade diferenciada.

3.2.7 ANÁLISE SENSORIAL DA CERVEJA

A análise sensorial é realizada em função das respostas transmitidas pelos indivíduos às várias sensações que se originam de reações fisiológicas e são resultantes de

certos estímulos, gerando a interpretação das propriedades intrínsecas aos produtos. Para isto, é necessário que haja entre indivíduos e produtos, contato e interação. O estímulo é medido por processos físicos e químicos, e as sensações por efeitos psicológicos, enquanto as sensações produzidas podem dimensionar a intensidade, extensão, duração, qualidade, gosto ou desgosto em relação ao produto avaliado (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Cerveja é uma solução aquosa complexa contendo CO₂, álcool etílico, vários sais inorgânicos e em torno de 800 compostos orgânicos (HARDWICK, 1995). O aroma e sabor da cerveja (flavor) devem ser preservados apesar das mudanças nos processos. O flavor (aroma e sabor) da cerveja é determinado pelas matérias primas usadas, pelo processo e pela levedura. Os compostos produzidos pela levedura durante a fermentação exercem o maior impacto no paladar e cheiro. Álcoois, ésteres, ácidos orgânicos, compostos carboxil e compostos contendo enxofre são os mais importantes componentes do flavour formados pela levedura (VIRKAJÄRVI, 2001).

As características sensoriais são métodos subjetivos utilizado para avaliação de alimentos, bebidas e água, os quais consideram as opiniões de indivíduos na interpretação de efeitos do estímulo sensorial, simples ou múltiplos, segundo as impressões percebidas pelos órgãos sensoriais (visão, olfato, gosto, tato e audição). Estes órgãos irão gerar as interpretações e definições das propriedades inerentes aos produtos, descrevendo os componentes relativos às propriedades dos produtos. A definição de atributos sensoriais é descrita pelos componentes relativos às propriedades dos produtos, por exemplo aparência, odor e aroma, textura oral e manual, sabor e gosto. A aparência refere-se às propriedades visíveis como o aspecto, cor, transparência, brilho, opacidade, forma, tamanho, espessura, consistência, carbonatação ou grau de efervescência e as características da superfície (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

O odor é percebido pelo órgão olfativo quando certas substâncias voláteis são aspiradas, enquanto o aroma é notado via retronasal durante a degustação. Já a textura compreende as propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície) dos produtos, sendo percebida por três ou quatro sentidos, exemplificados pelos receptores mecânicos, táteis e, ocasionalmente, os visuais e auditivos. Sabor e gosto são considerados uma experiência mista, no entanto, unitária de sensações olfativas, gustativas e táteis percebidas durante a degustação. O sabor é percebido, principalmente, pelos sentidos do

gosto e olfato, influenciado também pelos efeitos táteis, térmicos, dolorosos e/ou sinestésicos (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Quando se realiza uma análise das características sensoriais, o julgador deve expor suas impressões em relação aos atributos sensoriais e descrevê-los utilizando vocabulário apropriado (Instituto Adolfo Lutz, 2008)

O álcool etílico expressa a maior concentração de álcoois na cerveja e tem impacto em seu flavor. Dos álcoois superiores 3-metilbutanol (álcool isoamílico) e 2-metilbutanol (álcool amílico) também proporcionam impacto no flavor. Outros álcoois superiores afetam o flavor da cerveja através de seu efeito cumulativo como eles raramente existem em concentrações que excedam seus limiares de gosto individuais (MEILGAARD; PEPPARD, 1986).

Álcoois tem limiares sensoriais aproximadamente 10 vezes maior do que ésteres e aproximadamente 1000 vezes maiores do que compostos carbonila, apesar de que sua alta concentração e o seu impacto no flavor não são o mais importante (VIRKAJÄRVI, 2001).

Ésteres são importantes compostos de flavor na cerveja. Acetato de etila, 3-metilbutilacetato (acetato isoamílico), hexanoato de etila (caproato de etila), octanoato de etila (caprilato de etila) e 2-fenil acetato são os ésteres mais encontrados na cerveja (DUFOUR; MALCORPS, 1994). De acordo com Dufour e Malcorps (1994), 3-metilbutilacetato tem seu limiar de gosto em 90% das lagers europeias testadas, enquanto que acetato de etila excedeu seu limiar em menos do que 50% das bebidas testadas (VIRKAJÄRVI, 2001).

A cerveja é levemente ácida, sendo os ácidos carbônico e ácidos orgânicos, os responsáveis por um efeito do gosto positivo, acidez suave, na cerveja (HARDWICK, 1995). Os ácidos orgânicos são todos essencialmente subprodutos excretados pela levedura. Ácidos acético, cáprico, capróico e caprílico estão entre os ácidos mais ativos no flavor em cerveja (VIRKAJÄRVI, 2001).

Os compostos carbonila, acetaldeído e diacetil são os mais importantes no flavor da cerveja. Acetaldeído pode exceder seu limiar de gosto durante a fase ativa de fermentação, mas normalmente na fase tardia da fermentação é reduzido a etanol (ANGELINO, 1991). Diacetil é o composto chave no flavor na fermentação secundária. O off-flavor

amanteigado na cerveja causado pelo diacetil é removido durante a fermentação secundária ou maturação (VIRKAJÄRVI, 2001).

Compostos contendo enxofre vem principalmente do malte, mas o lúpulo também pode conter resíduos de enxofre (HARDWICK, 1995). Os compostos contendo enxofre derivados da levedura incluem sulfito de hidrogênio e dióxido de enxofre. Normalmente estes são removidos da cerveja durante a fermentação, mas em muitos casos isto pode não ocorrer (deficiência nutricional da levedura ou fermentação lenta) e off-flavor de ovos podres ou queimado pode ser detectado (ANGELINO, 1991).

Existem quatro gostos que são detectados primariamente pela língua: doce, salgado, azedo e amargo. Há um quinto sabor, chamado umami, descrito como um sabor delicioso e exemplificado por glutamato monossódico. Em particular a estes, e de relevância particular para a cerveja, é a estimulação do nervo trigeminal que responde a estímulos irritantes como rabanete silvestre, cebola, capsaicina e dióxido de carbono. De fato, níveis de dióxido de carbono em cerveja giram em torno de 1g.L^{-1} (23mM) para as cervejas do tipo “Ales” de barril, e em cervejas tipo “Lager” encontra-se mais de 5g.L^{-1} (114mM). Dado que o limiar sensorial de dióxido de carbono em água é em torno de 1g.L^{-1} , é claro que o dióxido de carbono exerce um importante papel na percepção sensorial da cerveja (HUGUES; BAXTER, 2001).

As opções disponíveis para avaliação sensorial de cervejas dependem da questão posta pelo degustador. As circunstâncias nas quais os dados sensoriais vão ser requeridos são diversas e incluem: certificar aceitabilidade de um produto para a sua liberação no mercado; certificar nenhuma mudança no processo, como sazonalidade do malte ou modificação de tratamentos de estabilização que não afetem os atributos de aroma e sabor da bebida; para atribuir os atributos sensoriais de marcas não familiares (por exemplo, marcas competidoras); problemas possíveis de defeitos no sabor e aroma; comparação com o desempenho da marca, tanto com a companhia como a nível do consumidor (PREEDY, 2009).

A Tabela 4 apresenta os flavors da cerveja e os pontos no processo cervejeiro nos quais eles podem ser controlados. Dependendo dos métodos de treinamento, os degustadores vão pontuar, tanto numericamente como numa escala linear. Os descritores frequentemente vão ser atributos positivos (por exemplo, éster, frutado, amargo, maltado) e

negativos (diacetil, butírico, azedo), embora isto seja importante para lembrar que alguns descritivos negativos para algumas bebidas são aceitáveis em níveis controlados em outras (PREEDY, 2009).

Tabela 4 - Flavors da cerveja e os pontos no processo cervejeiro nos quais eles podem ser controlados

Ponto do processo ou área de risco	Exemplos de flavors
Matérias primas e cervejaria	Adstringente, amargo, queimado, caramelo, chocolate, DMS, grama recém cortada, isovalérico, lúpulo cozido, licoroso, malte, salgado, fumaça, baunilha, mosto
Condicionamento e processamentos	Acetaldeído, alcoólico, acetato de etila, butirato de etila, hexanoato de etila, acetato isoamílico, H ₂ S, sulfítico, doce, azedo
Condicionamento e processamentos finais	Acetaldeído, borracha queimada, caprílico, carbonatação, diacetil, lactato de etila, H ₂ S, cárneo, mercaptano, cebola, levedura.
Embalagem	Nenhum – processo deve ser neutro para flavor de cerveja
Distribuição e estocagem	Adstringente, mel, couro, gosto de luz, metálico, cebola, papel, poeira, tabaco, vinho
Higiene de cervejaria	Acetaldeído, acético, butírico, diacetil, DMS, acetato de etila
Defeitos	Alcalino, bromofenol, clorofenol, terroso, mosto

Fonte: Preedy, 2009.

O campo da avaliação sensorial cresceu rapidamente na segunda metade do século XX, ao longo da expansão de alimentos processados e o consumo de produtos industriais. Avaliação sensorial compreende várias técnicas para acurada medição de respostas humanas a alimentos e minimizar os efeitos de polarização da identidade da marca e outras influências de informação na percepção do consumidor. Como tal, isto é uma tentativa para isolar as propriedades sensoriais dos alimentos e prover importante informação útil para aqueles que desenvolvem novos produtos, cientistas de alimentos, sobre as características sensoriais de seus produtos. Avaliação sensorial é definida como um método científico usado para evocar, medir, analisar e interpretar estas respostas a produtos percebidos através dos sentidos de visão, olfato, tato, audição, gosto (LAWLESS; HEYMANN, 2003).

Fatores que influenciam as avaliações sensoriais são os efeitos fisiológicos e os psicológicos. O primeiro destes relaciona-se à adaptação e fadiga, em que a exposição contínua a certo estímulo conduz à redução de sensibilidade a este estímulo. Já os efeitos psicológicos que podem ocorrer durante a análise sensorial são: a sugestão mútua, em que a

avaliação de um provador pode ser influenciada por outro provador; a ordem de apresentação das amostras, em que a posição, tempo e os erros de contraste e convergência, de tendência central e o efeito residual (BRUNELLI, 2012).

Entre os métodos sensoriais convencionais, há o de comparação pareada, em que o objetivo é destacar uma amostra da outra, selecionando aquela que mais agrada ao consumidor (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1993). Este teste pode ser aplicado para determinar se existe diferença entre duas amostras; estabelecer se existe uma preferência; e selecionar ou treinar julgadores. Deve ser fornecido ao julgador um ou mais pares de amostras, apresentadas em ordem balanceada ou ao acaso, e ao julgador deve-se fazer uma pergunta específica relevante, referindo-se à diferença, diferença direcional ou preferência. Para a diferença direcional pergunta-se: “destas duas amostras, qual a mais (doce, salgada, etc.)?” ou, “destas duas amostras, a amostra A é mais que a B?”. Já para o teste de preferência, pergunta-se “destas duas amostras, qual você prefere?” (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1994).

Quanto à escolha da técnica, a de escolha forçada é a mais utilizada, em que o provador é obrigado a indicar qual amostra apresenta diferença ou qual a sua preferida. A análise dos resultados desta técnica é baseada na distribuição quiquadrada, sendo recomendado o uso da Tabela 5 sendo a interpretação baseada no número de julgamentos totais versus o número de julgamentos corretos ou concordantes. Se este valor for superior ou igual ao valor que existe diferença ou preferência entre as amostras, conclui-se que existe diferença ou preferência entre as amostras ao nível de significância observado (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1994).

Tabela 5 - Número mínimo de julgamentos corretos para estabelecer significância em vários níveis de probabilidade, para o teste de comparação pareada unilateral ($p = \frac{1}{2}$). Fonte: Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR 13088 (1994).

Número de julgamentos/ Níveis de probabilidade	5%	4%	3%	2%	1%	0,5%	0,1%
7	7	7	7	7	7		
8	7	7	8	8	8	8	8
9	8	8	8	8	8	9	9
25	18	18	18	19	19	20	21
26	18	18	19	19	20	20	22
27	19	19	19	20	20	21	22
40	26	27	27	27	28	29	30
41	27	27	27	28	29	30	31
42	27	28	28	29	29	30	32
50	32	32	33	34	34	35	37
60	37	38	38	39	40	41	43
70	43	43	44	45	46	47	49

Fonte: Minim, 2013.

Para os testes afetivos, no caso da escala hedônica, esta é utilizada por consumidores que expressam a aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente, com base nos atributos “gosta” “desgosta (MINIM, 2013).

Entre as aplicações dos testes afetivos pode-se destacar: manutenção da qualidade de determinado produto, otimização de produtos e/ou processos, desenvolvimento de novos produtos e processos e avaliação e modificação dos produtos (MINIM, 2013).

A escala hedônica foi desenvolvida durante a Segunda Guerra Mundial, por Jones et al (1955) e por Peryam e Pilgrim (1957) de forma a avaliar a aceitabilidade de alimentos militares (MINIM, 2013).

O princípio deste teste é que o julgador receba as amostras codificadas, com números de três dígitos, sendo solicitado a avaliação dos seus sentimentos em relação a cada amostra, sendo estes julgadores selecionados ao acaso, entre os membros da população de consumidores do produto (MINIM, 2013).

Uma forma comum de analisar os resultados da escala hedônica é pela análise de variância (ANOVA) (Tabela 6), que considera conjuntamente as avaliações de todos os consumidores assume que todos apresentam o mesmo comportamento (MINIM, 2013).

Tabela 6 - Resumo da ANOVA

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F
Amostra (A)	(i-1)	SQ_A	SQ_A/GL_A	QM_A/QM_R
Julgadores (J)	(j-1)	SQ_J	SQ_J/GL_J	QM_J/QM_R
Resíduo (R)	(N-1)-(i-1)-(j-1)	SQ_R	SQ_R/GL_R	
Total	(N-1)	SQ_{Total}	SQ_{Total}	

Fonte: MINIM, 2013.

Quando o valor de $F_{calculado}$ é maior que $F_{tabelado}$, pode-se concluir que existe diferença significativa entre as amostras, sendo o teste realizado com apenas duas amostras, o teste F é conclusivo, ou seja, não há necessidade de se aplicar um teste de comparação de médias (MINIM, 2013).

Carvalho (2009) estudou a produção de cerveja utilizando banana (*Musa sp.*) como adjunto. Das cervejas otimizadas fez-se uma avaliação sensorial comparando-as com cervejas do mercado brasileiro, observando-se que para os testes de preferência as cervejas com banana foram estatisticamente preferidas em relação às amostras do mercado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

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

4.1 MATÉRIAS PRIMAS

4.1.1 ÁGUA

A água utilizada nos experimentos para a obtenção do mosto com pinhão foi obtida do poço artesiano localizado no Campus I da EEL-USP – Lorena.

4.1.2 MALTE DE CEVADA

O malte de cevada utilizado foi o malte claro, tipo *Pilsen* (sacos de 50 kg) gentilmente doado pela Malteria do Vale S/A em Taubaté.

4.1.3 LÚPULO

O lúpulo utilizado é da variedade Zeus, na forma de *pellets* isomerizados, com aproximadamente 11% de iso- α -ácidos + α -ácidos, gentilmente doado pela Wallerstein Industrial e Comercial Ltda.

4.1.4 PINHÃO (*ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA*)

O pinhão foi recebido em sacos com capacidade aproximada de 50kg, proveniente de doação feita por moradores da região (sítios e fazendas) situados em Cunha, SP.

Figura 2 - Pinhão utilizado nas pesquisas

Fonte: autor

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO PINHÃO

4.2.1 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE GELIFICAÇÃO

A temperatura de gelificação do amido do pinhão foi determinada por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). O pinhão pulverizado em moinho IKA, modelo A11 Basic, foi misturado com água deionizada numa proporção de 1:4 (pinhão:H₂O). Desta mistura, 9,1 mg foram acondicionados e selados em cadinho próprio, e analisados no aparelho de DSC TA Instruments, modelo Q10, com taxa de aquecimento de 10 °C/min e faixa de temperatura de 30°C a 110°C.

4.2.2 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE DO PINHÃO CRU

Os ensaios foram conduzidos em um mosturador de bancada marca Lochner Labor + Technik, modelo LB Eletronic, com 4 cubas de mosturação com capacidade de 500 mL cada uma. Com o objetivo de avaliar a eficiência da hidrólise de pinhão com malte, foram efetuados testes de mosturação nas cubas do mosturador. Os experimentos foram conduzidos, em duplicata, sendo um mosto preparado com pinhão com casca e outro com o pinhão sem casca, nas porcentagens de 100, 75, 50 e 25% de malte e 0, 25, 50 e 75% de pinhão. A moagem dos grãos de malte foi realizada a seco em moinho de rolo. A distância entre os rolos foi ajustada a uma distância de 1,3 mm entre os rolos, e posteriormente 0,7mm, conforme Tschope (2001). O tempo final de mosturação foi determinado pelo teste de iodo, que consiste em misturar algumas gotas de solução de iodo (0,2N) no mosto. Caso a coloração do mosto alterar para violeta, indica que existe amido ainda a ser hidrolisado, não tendo ocorrido a reação de oxirredução, e, se não houver alteração de mudança de cor do mosto, todo o amido foi hidrolisado.

4.2.3 DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO DE SECAGEM DO PINHÃO

Inicialmente previa utilizar o pinhão cru, mas em seguida percebeu-se que em pouco tempo de armazenagem a semente sofria transformações provocando brotamento ou degradação. Diante deste fato, resolveu-se secar o pinhão com o objetivo de aumentar o período de sua conservação.

O pinhão foi preparado segundo a metodologia proposta por Martinez (informação verbal). Primeiro triturou-se o pinhão, distribuindo-se aproximadamente 5g em 3 placas de

Petri, em estufa nas temperaturas de 30, 40, 50, 60 e 70°C, por períodos de 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos.

As placas foram retiradas da estufa e colocadas em dessecador, onde permaneceram por 30 minutos, procedendo-se então a pesagem.

Após a determinação da temperatura adequada, o pinhão inteiro foi submetido a secagem em bandejas de alumínio por um período de 90 horas. O pinhão seco foi armazenado em recipiente plástico tampado e revestido de papel alumínio e papel Kraft.

4.2.4 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE DO PINHÃO COZIDO

O pinhão seco foi cozido em autoclave a 1atm por 20 minutos. Após o cozimento, parte do pinhão com casca foi triturado, esta condição foi utilizada na preparação do mosto para obtenção de cerveja de pinhão com casca. Outra parte de pinhão permaneceu armazenada até momento de uso.

Na preparação do mosto para obtenção de cerveja com o pinhão sem casca, o pinhão foi parcialmente descascado em um moinho para facilitar a retirada da amêndoa e esta foi submetida a trituração.

Após determinação do teor de umidade, o material triturado foi misturado com o malte moído nas proporções de 10:90; 45:55 e 80:20 de pinhão:malte, e então todo o material foi submetido à mosturação.

4.3 MICRORGANISMO E PREPARO DO INÓCULO

Foi empregada a levedura cervejeira comercial *Saccharomyces cerevisiae* PPB01 tipo “Lager” proveniente de cultura estoque do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Biotecnologia, a qual se encontra na forma de repique como mostrada na Figura 3. Esta levedura possui uma alta estabilidade, é flocculante, o que facilita sua remoção após a fermentação.

Figura 3 – Repique da levedura em placa de Petri contendo meio ágar extrato de malte

Fonte: autor.

O inóculo foi preparado a partir da levedura cultivada em dois tubos de ensaios, contendo Agar extrato de malte (sem adição de glicose). O conteúdo de células dos dois tubos foi distribuído em 1 frasco Erlenmeyer de 1 L, contendo 300 mL de meio. Este volume foi redistribuído em 6 frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 50 mL de meio de mosto puro malte a 10,9°P. Estes frascos foram então colocados em um shaker a 200rpm, 30°C, durante 24h. Para a escala piloto, utilizou-se 3 tubos de ensaios com a levedura, cujo conteúdo foi transferido para um frasco Erlenmeyer de 1L, contendo 250 mL de meio. Este volume foi transferido para um frasco Erlenmeyer de 6 L, contendo 2,5 L de meio. Este procedimento foi realizado em duplicata, para se ter um volume total de inóculo de 5L, para iniciar o processo de fermentação em escala piloto com 50 L de mosto.

4.4 PROCESSO CERVEJEIRO (TESTES PRELIMINARES)

4.4.1 MOAGEM DO PINHÃO IN NATURA

O pinhão “*in natura*” foi moído em liquidificador apropriado (Figura 4), enquanto o malte foi triturado em um moinho de rolos, com distância de 0,7 mm entre os rolos, conforme Tschope (2001).

Figura 4 - Pinhão com casca submetida à primeira moagem (grossa).

Fonte: autor.

4.4.2 MOSTURAÇÃO

A mosturação do pinhão “*in natura*” ocorreu no mosturador de bancada da marca Lochner (Labor + Technik) e seguiu as condições da curva apresentada na Figura 6. Foi adicionado as proporções de malte:pinhão levando em consideração a umidade de cada matéria prima, e completando-se o volume com água até que 80% do volume de cada uma das cubas de mosturação fosse atingido. As proporções de malte: pinhão utilizadas foram 100:0, 75:25, 50:50 e 25:75.

Figura 5 - Mosturador de bancada Lochner (Labor + Technik) utilizado nas mosturações do pinhão “*in natura*”

Fonte: <http://www.lochner-europe.de/en/products/lp-electronic-mashing-device>

Figura 6 - Mosturação aplicada aos mostos contendo pinhão e malte.

Adaptado de Tschope (2001).

Nota-se nesta figura que as rampas entre os patamares de mosturação levam um determinado tempo, para que tenha tempo suficiente para aquecer o recipiente de modo a chegar na temperatura seguinte (aproximadamente 10°C para cada patamar)

4.4.3 FILTRAÇÃO

A filtração do mosto com pinhão “*in natura*” foi realizada transferindo-se o conteúdo de cada uma das 4 cubas do mosturador, para um filtro de porcelana, colocado em frascos Erlenmeyer com capacidade de 1L.

4.4.4 FERVURA

O mosto filtrado foi submetido à fervura em chapa aquecedora em um frasco Erlenmeyer com capacidade de 1L, até que a concentração de açúcares no mosto atingisse 10,6°P. Durante os 60 minutos de fervura foram adicionados uma concentração de 1,5g/L de lúpulo em pellets, metade no início da fervura e a outra metade nos 15 minutos finais.

4.4.5 FERMENTAÇÕES

As fermentações ocorreram em garrafas de vidro transparentes (1L) com tampa rosqueável contendo cada uma o mosto produzido em cada uma das cubas de mosturação. O inóculo foi preparado conforme item 4.3.2 e as fermentações realizadas em temperatura

ambiente por 144h. Foram obtidas amostras para análises quanto ao teor alcoólico e extratos no analisador de bebidas Beer Analyser 2 conforme item 4.7.1. As análises realizadas no mosto cervejeiro foram esporádicas, de modo que esta etapa (testes preliminares) visava estabelecer se todo o malte seria suficiente para sacarificar o amido de pinhão.

4.5 PROCESSO CERVEJEIRO EM ESCALA DE BANCADA

4.5.1 HIDRÓLISE DO PINHÃO

A hidrólise do pinhão seco foi realizada conforme item 4.2.4.

4.5.2 MOAGEM DO PINHÃO SECO E COZIDO

A moagem do pinhão seco (conforme metodologia do item 4.2.3) foi realizada em moedor apropriado, sendo triturado duas vezes para obter grãos finos. Foram realizadas duas moagens, uma grossa e outra para obtenção de grãos finos.

4.5.3 PREPARO DO MOSTO/MOSTURAÇÃO

A mosturação foi conduzida em um recipiente com capacidade de 15L, onde foi adicionado o pinhão, o malte e 6L de água. As proporções utilizadas de malte: pinhão foram 90:10, 55:45 e 20:80 nas versões pinhão com casca e pinhão sem casca.

Para a preparação do mosto seguiu-se a curva de mosturação ilustrada na Figura 6 (alterando apenas o tempo de permanência nas temperaturas de 52°C e 62°C para 40min e 50min, respectivamente). Ao final deste processo, a 72°C, foi realizado o teste do iodo (0,2N), para verificar se a sacarificação do amido do malte e das dextrinas do pinhão foi completada. Após a confirmação, a mistura foi aquecida a 78°C durante 10 minutos para inativar as enzimas do malte de forma a se obter um mosto com aproximadamente 8°P.

4.5.4 FILTRAÇÃO DO MOSTO

O mosto obtido durante a etapa de mosturação em banho de brassagem, foi filtrado em funil de porcelana, em seguida lavado com um volume de água secundária, suficiente para que a concentração de açúcar residual ficasse abaixo de 4°Brix, e em seguida todo o líquido foi transferido para garrafas de 1L, em condições assépticas. O mosto preparado com pinhão e malte foi submetido à filtração em uma panela de aço inox, com fundo

ranhurado, com capacidade de 15L. A camada filtrante, denominada “torta”, formada pelo bagaço de malte e pinhão, foi lavada com um volume de água secundária a 78°C, até que a concentração da água residual de lavagem abaixasse para 4°P.

4.5.5 FERVURA DO MOSTO/LUPULAGEM

O mosto filtrado, foi submetido à fervura em panela apropriada com capacidade de 15L, por aproximadamente 1 hora, até que a concentração de açúcares no mosto atingisse 10,6°P, devido a evaporação. Durante o tempo de fervura foram adicionados uma concentração de 1,5g/L de lúpulo em pellets, metade no início da fervura e a outra metade nos 15 minutos finais.

4.5.6 FERMENTAÇÕES E MATURAÇÃO

As fermentações em escala de bancada foram conduzidas em frascos Erlenmeyer com capacidade de 2 L, contendo 1,2 L de mosto, com uma concentração de extrato original de 10,9°P o qual recebeu 150mL de inóculo a 10,9°P. Para o volume de inóculo utilizado, procurou-se manter sempre uma relação de pé de cuba de aproximadamente 10%, de forma a se obter uma concentração celular inicial entre 10^6 e 10^7 células/mL no meio de fermentação.

Foram retiradas amostras a cada 12 horas e feitas determinações dos teores de álcool e de extratos em analisador de bebidas Beer Analyzer 2, conforme item 4.7.1. O ponto final da fermentação foi estabelecido quando não houve alterações dos teores de extrato, não se alterarem, entre 2 medições seguidas.

Imediatamente ao constatar o término da fermentação, a temperatura foi ajustada em 0°C para o início da maturação. Após 24 horas, foram retirados o excesso de células e a condição de maturação permaneceu nestas condições por 14 dias.

4.5.7 EMBALAGEM E CARBONATAÇÃO

Após maturação, a cerveja foi carbonatada (adicionando-se uma solução de açúcar de 5g/L) dentro de garrafas com capacidade para 0,6L esterilizadas em autoclave, a 1atm por 30 min, permanecendo em temperatura ambiente por 15 dias até o momento da análise sensorial.

4.5.8 ANÁLISE SENSORIAL

Os testes de Análise Sensorial foram aplicados no Laboratório de Análise Sensorial da Planta Piloto de Bebidas da EEL, equipado com cabines individuais com iluminação e temperatura adequadas para concentração dos provadores. Realizou-se uma análise sensorial das 6 proporções de cerveja para avaliar qual foi a mais aceita de forma a empregar as proporções escolhidas para realização do processo em escala piloto.

A avaliação sensorial foi composta por aproximadamente 40 consumidores de ambos os sexos. Foram aplicados Testes de Aceitação conforme formulário (Figura 7). O pré-requisito para que o voluntário participasse da pesquisa é que tivesse mais de 18 anos e o hábito de consumir cerveja. O formulário utilizado na análise sensorial está ilustrado na Figura 7. Aproximadamente 30 mL de amostra foram servidas individualmente na temperatura de consumo, entre 2 e 5°C, em copos plásticos resistentes (acrílico) transparentes, alternadamente com um copo com água mineral e biscoito cream cracker para enxágue e renovação do paladar.

Para análise estatística foi utilizada a análise de variância (ANOVA), através do programa Excel 2007 (Microsoft).

Figura 7- Formulário utilizado no Teste de Aceitação.

Análise Sensorial de Cerveja – Mestranda Raquel de Almeida Batista		
Nome: _____	Idade: _____	
Serão servidas 2 amostras de cerveja, codificadas com números de três dígitos. Experimente e analise da direita para a esquerda. Você deverá atribuir a nota de 1 a 9 conforme critério abaixo em relação à impressão global, além de destacar aquela amostra que mais lhe agrada. Entre cada amostra deverá comer um pedaço de biscoito e beber água para diminuir os gostos residuais da amostra anterior. Peça a gentileza de colocar o nome, idade.		
(9) Gostei extremamente		
(8) Gostei muito		
(7) Gostei moderadamente		
(6) Gostei ligeiramente	Amostra _____	Amostra _____
(5) Não gostei nem desgostei	() Impressão global	() Impressão global
(4) Desgostei ligeiramente		
(3) Desgostei moderadamente		
(2) Desgostei muito		
(1) Desgostei extremamente	Comentários: _____	
<i>Obrigada, Raquel de Almeida Batista</i>		

Fonte: autor.

4.5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram internamente casualizados, e realizados em duplicata. Para a análise sensorial a significância estatística foi obtida a partir de tabela específica para este

método, conforme ASBC (1996). Para os testes de aceitação, foram calculados as médias e os desvios padrão, e aplicado teste *t* de *Student* em nível de 5% de probabilidade.

4.6 PROCESSO CERVEJEIRO EM ESCALA PILOTO

4.6.1 HIDROLISE DO PINHÃO

A hidrólise do pinhão, para obtenção da cerveja em Planta Piloto, foi semelhante à realizada para a escala de bancada (item 4.2.4).

4.6.2 MOAGEM

O pinhão foi moído semelhante ao ocorrido para escala de bancada (item 4.5.2).

4.6.3 MOSTURAÇÃO

As condições de mosturação para obtenção da cerveja produzida na planta piloto foram semelhantes à de bancada (item 4.5.3). O processo foi conduzido em um tanque de aço inox com capacidade para 120L. Nesta etapa foram empregadas as proporções de pinhão:malte definidas na escala de bancada (10:90 pinhão com casca:malte e 45:55 pinhão sem casca:malte). A quantidade de malte e de adjuntos foi calculada para a obtenção de 50 L de mosto com 10,9°P de extrato original, levando em consideração o rendimento de 75% da massa de malte, e 73% do pinhão.

Foram pesados 1,8Kg de pinhão e 5,35kg de malte, quando utilizou a proporção de 10% de pinhão com casca, e 2,7Kg de pinhão e 3,26kg de malte, para a proporção de 45% de pinhão sem casca. Para ambos os casos o malte foi moído em moinho de rolos, com distância de 0,7 mm entre os rolos.

No tanque de mosturação foram adicionados o pinhão, 28 litros de água primária (para 10% de pinhão), ou 31L (para proporção de 45% pinhão). Esta mistura foi hidrolisada como descrito no item 4.5.3. Ao final deste processo, o mosto foi enviado para filtração. A Figura 8 ilustra os tanques utilizados nas etapas de mosturação, filtração e fervura.

Figura 8—Equipamentos das etapas de mosturação, filtração e fervura (da esquerda para a direita tem-se a tina de mosturação, a tina de filtração e a tina de fervura)

Fonte: autor

4.6.4 FILTRAÇÃO DO MOSTO

O mosto preparado com pinhão foi submetido à filtração em tanque de aço inox com capacidade para 120 L contendo agitador, disco filtrante ranhurado Pak Screens, bomba centrífuga e isolamento térmico, contendo 50L de mosto. A camada filtrante, denominada “torta”, formada pelo bagaço de pinhão e do malte, foi lavada com 20 L (15 + 5) de água a 78°C, até que a concentração da água residual da lavagem atingisse 4°P.

4.6.5 FERVURA DO MOSTO/LUPULAGEM

A fervura do mosto foi realizada em um tanque de aço inoxidável provido de aquecimento elétrico e controle de temperatura. Aos 30 minutos do início da fervura foi adicionado de 37,5g de lúpulo, correspondente a 50% da massa total, e aos 60 minutos de fervura o restante do lúpulo.

A fervura foi conduzida até a concentração de extrato no mosto atingisse 10,9°Brix.

Após a fervura, o mosto foi submetido à recirculação tangencial por cerca de 60 minutos para permitir a precipitação de proteínas e polifenóis. Durante este tempo, o mosto foi resfriado por meio de circulação de água fria corrente na camisa do tanque.

Após a recirculação do mosto, desligou-se a bomba e o mosto foi mantido em repouso por 60 minutos, sendo resfriado até 30°C. Ao final deste período, foi retirado o

sedimento de proteínas e polifenóis, denominado “trub”, e o mosto transferido por bombeamento para o tanque de fermentação.

4.6.6 FERMENTAÇÕES E MATURAÇÃO

As fermentações foram conduzidas em um fermentador de aço inox, com controle de temperatura digital e volume de 120 L. Foram preparados 45L de mosto, com 10,9°P, que recebeu 5L de inóculo com uma concentração de 10,9°P. Para o volume de inóculo utilizado procurou-se manter uma relação de pé de cuba de 10%, suficiente para obter uma concentração celular inicial de 10^6 a 10^7 células/mL no meio de fermentação semelhante ao realizado em escala de bancada.

Foram retiradas amostras a cada 12 horas e feitas determinações dos teores de álcool e de extratos por meio de análise no analisador de bebidas Alcolyser Beer (Anton Paar). No caso dos extratos no momento da retirada do fermentador foram feitas análises em refratômetro digital. O ponto final da fermentação foi estabelecido quando, as determinações dos teores de extrato, não se alterarem, entre 2 medições.

Imediatamente ao constatar o término da fermentação, a temperatura foi ajustada em 0°C para o início da maturação. Após 24 horas, foram retirados o excesso de células e a maturação permaneceu assim por 10 dias.

A cerveja produzida foi filtrada e parte dela foi armazenada em barris de aço inoxidável, e outra parte envasada em garrafas com capacidade de 0,6L para ser submetida a análise sensorial. Os resultados das análises das fermentações para determinação dos parâmetros fermentativos foram realizados conforme item 4.7.2.

4.6.7 EMBALAGEM E CARBONATAÇÃO

Após a filtração a cerveja foi direcionada para um fermentador o qual foi acoplado a um cilindro de CO₂ para a correção do teor de CO₂. A bebida foi envasada em garrafas de vidro âmbar com capacidade de 0,6L para posterior análise sensorial. O restante foi colocado em barris de 50L.

4.6.8 ANÁLISE SENSORIAL

Os testes de Análise Sensorial foram aplicados no Laboratório de Análise Sensorial da Planta Piloto de Bebidas da EEL, semelhante ao ocorrido para escala de bancada (4.5.8)

exceto quando ao formulário (Figura 9) e número de amostras que neste caso foi incluída uma amostra comercial.

Para análise estatística foi utilizada a análise de variância (ANOVA), através do programa Excel 2007 (Microsoft) semelhante ao utilizado para escala de bancada. E, em caso de diferença significativa estabelecida entre as amostras, foi feito um teste de Tukey, em que se analisou a diferença mínima significativa (dms), calculada por, de acordo com Minim (2013):

$$Dms = q(\alpha, i, GL_E) \cdot (QM_{res}/j)^{1/2}$$

Dms = diferença mínima significativa;

q = amplitude total estudentizada;

α = nível de significância escolhido;

GL_R = grau de liberdade do resíduo;

QM_{res} = quadrado médio do resíduo

j = número de julgadores

Quando a diferença entre médias de duas amostras fosse maior que a diferença mínima significativa, significava que as amostras diferiam entre si.

A Figura 9a qual ilustra o formulário usado para o teste de aceitação constam as informações sobre os provadores

Figura 9 - Formulário utilizado no Teste de Aceitação

Análise Sensorial de Cerveja – Mestranda Raquel de Almeida Batista		
Nome: _____ Idade: _____ Consumo mensal: _____		
Serão servidas 3 amostras de cerveja, codificadas com números de três dígitos. Experimente e analise da direita para a esquerda. Você deverá atribuir a nota de 1 a 9 conforme critério abaixo e avaliar, para cada um, a coloração, aroma (odor), gosto e impressão global, além da intenção de compra. Entre cada amostra deverá comer um pedaço de biscoito e beber água para diminuir os gostos residuais da amostra anterior, bem como sentir o cheiro de café para minimizar efeitos do aroma. Peço também a gentileza de colocar o nome, idade, e consumo médio mensal de cerveja (em litros ou número de garrafas de 600mL).		
(9) Gostei extremamente	(9) Certamente compraria	
(8) Gostei muito	(7) Provavelmente compraria	
(7) Gostei moderadamente	(5) Talvez comprasse/ talvez não comprasse	
(6) Gostei ligeiramente	(3) Provavelmente não compraria	
(5) Não gostei nem desgostei	(1) Certamente não compraria	
(4) Desgostei ligeiramente		
(3) Desgostei moderadamente		
(2) Desgostei muito		
(1) Desgostei extremamente		
Amostra _____	Amostra _____	Amostra _____
() Coloração	() Coloração	() Coloração
() Aroma	() Aroma	() Aroma
() Gosto	() Gosto	() Gosto
() Impressão global	() Impressão global	() Impressão global
() Intenção de compra	() Intenção de compra	() Intenção de compra
Comentários: _____		
Obrigada, Raquel de Almeida Batista		

Fonte: autor

4.6.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As Análises estatísticas foram realizadas conforme item 4.5.9.

4.7 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.7.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

No mosto foram determinados o teor de extrato aparente e extrato real, por meio do analisador de bebidas Anton Paar, modelo Beer Analyzer 2, para as cervejas obtidas nos testes preliminares e escala de bancada. Para a escala piloto, as análises foram realizadas em refratômetro digital (no momento da coleta) e no Alcolyser Beer (Anton Paar), em que as amostras foram congeladas até o momento da análise.

No produto acabado, foram analisados o teor de álcool e de extratos original, aparente e real no equipamento Beer Analyzer Anton Paar, assim como a densidade da cerveja.

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

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

Na qual:

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

$Teor_{Ex}$ = Teor de extrato (% m/v);

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

O rendimento da mosturação (grau de atenuação) foi calculada pela equação 2:

O rendimento da mosturação (grau de atenuação) foi calculada pela equação 2:

$$Em = \frac{Massa_{ER}}{M_{malte} + M_{adjunto}} \times 100 \quad (2)$$

Na qual:

E_m = Eficiência da mosturação (%);

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

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

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

4.7.2 PARÂMETROS FERMENTATIVOS

Durante a fermentação foram medidos o teor de etanol (% v/v), o extrato original, o extrato real (°P), e o extrato aparente (°P), e determinado o grau aparente de fermentação (%) e grau real de fermentação (%), por meio do equipamento Beer Analyzer 2 (Anton Paar). Os resultados da escala piloto, as análises foram realizadas no Alcoyser Beer Anton Paar, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, obtendo-se

os valores de teor alcoólico. Para os valores de extrato (em °Brix) foi utilizado um refratômetro de bolso.

Ao final da fermentação, o fator de conversão foi calculado pela equação 3.

$$Y_{p/s} = \frac{m_{Et}}{m_{Ex}} \quad (3)$$

Na qual:

$Y_{p/s}$ = Quantidade de etanol produzido em relação ao açúcar consumido (g/g);

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

m_{Ex} = massa de extrato consumido (g)

A eficiência da fermentação foi obtida pela equação (4):

$$\text{Eficiência (\%)} = \frac{Y_{p/s \text{ obtido}}}{Y_{p/s \text{ teórico}}} \times 100 \quad (4)$$

O $Y_{p/s}$ teórico foi utilizado o fator de Balling (0,4832) conforme Kristiansen (2007).

4.7.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Nas 60 primeiras horas de fermentação em escala piloto, a cada 12h foi feita contagem de células em câmara de Neubauer (11400mm² x 1110mm) para determinação de células viáveis empregando-se o corante azul de metileno e contagem total de células.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir estão apresentados os resultados referentes às etapas de caracterização do pinhão, fermentações e análises sensoriais das bebidas produzidas com diferentes proporções de pinhão e malte.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO PINHÃO

5.1.1 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE GELIFICAÇÃO

A temperatura de gelificação do amido do pinhão determinada pela análise por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) encontrada foi de 81,6 °C. Esta temperatura é superior aquelas reportadas também para pinhão por Muccillo (2009), Tasende e Olivera (2013) e Daudt (2012), as quais foram de 47,64°C, 70°C e 66,26°C, respectivamente. Em estudos realizados por Santos (2011) utilizando arroz preto, a temperatura encontrada foi de 78,68°C. Mestres (1996) encontrou os valores de temperatura de gelificação de 69,6°C (milho), 66,3°C (arroz), 65°C (mandioca) e 64,4°C (batata) e 59,2°C (trigo). Esta diferença é atribuída ao número de ramificações presente em cada tipo de amido, em que a quantidade de amilose e amilopectina irão alterar esta temperatura de gelificação.

5.1.2 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE DO PINHÃO

Para a determinação da massa de pinhão e de malte para serem utilizadas na mosturação no banho de brassagem, cerca de 5g de pinhão foram submetidos à secagem em estufa obtendo-se em média os seguintes valores de umidade 38,55 e 35,55% pinhão com e sem casca, respectivamente. Estes resultados foram inferiores àqueles encontrados na literatura que descrevem que a umidade do pinhão é de 50% (FERREIRA, 1977).

Na Tabela 7 são mostrados os valores dos tempos decorridos para a sacarificação total do amido de pinhão, durante realização dos ensaios conduzidos em banho de mosturação, com as porcentagens de pinhão em 75, 50, 25 e 0%, com o pinhão com e sem casca, e malte de cevada nas proporções de 25, 50, 75 e 100%.

A mesma tabela apresenta o tempo de sacarificação do amido de pinhão, durante mosturação em banho de brassagem. Esses tempos serviram como estimativa de tempo de mosturação necessário para ampliação de escala, de modo que o açúcar constituinte

(maltose, principalmente) estivesse disponível como seus monômeros metabolizáveis pela levedura durante fase seguinte (fermentação).

Tabela 7 - Evolução do tempo de sacarificação do amido de pinhão com e sem casca durante a mosturação

		Tempo de mosturação (min)
Malte (%)	Pinhão com casca (%)	
100	0	72
75	25	96
50	50	132
25	75	155
Malte (%)	Pinhão sem casca (%)	
100	0	78
75	25	120
50	50	156
25	75	182

Fonte: autor.

Estes resultados revelam que quanto maior o teor de pinhão, maior foi o tempo necessário para total sacarificação do amido de pinhão e de malte, possivelmente pelo menor teor enzimático proveniente do malte, necessitando de um tempo maior para ação das enzimas.

5.1.3 DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE SECAGEM

Com relação à temperatura de secagem do pinhão (Tabela 8) são apresentados resultados de massa de pinhão referentes à melhor temperatura de secagem (60°C). Nesta temperatura ocorreu maior perda de peso no mesmo tempo estudado (96 horas). Com o aumento desta temperatura para 70°C, ao realizar a hidrólise do pinhão para posterior mosturação, verificou-se a suacaramelização (intensificação do sabor caramelo).

Tabela 8- Teor de umidade do pinhão à temperatura de 60°C.

	Teor de umidade
Semente	11,37%
Casca	5,65%
Semente + casca	9,81%

Fonte: autor.

5.2 PROCESSO CERVEJEIRO (TESTES PRELIMINARES)

Com o objetivo de obter algumas informações básicas para a composição da metodologia seguida, foram realizados alguns testes preliminares a fim de familiarizar-se com o manuseio do pinhão e preparação do mosto. Considerando ainda não existir cerveja utilizando pinhão como adjunto no mercado, os experimentos realizados foram embasados na metodologia de preparação da cerveja tradicional.

5.2.1 MOSTURAÇÃO

A Tabela 9 mostra os resultados da análise do teor de sólidos solúveis e o grau de atenuação, que é o °Brix inicial menos o °Brix final, dividido pelo °Brix inicial.

Pode-se notar que para o valor de grau de atenuação, ou rendimento, aquelas cervejas produzidas com maior teor de pinhão obtiveram os menores valores para este parâmetro, bem como observado para a presença de casca, em que houve menor assimilação dos açúcares (Tabela 9).

Tabela 9 - Análise do teor de sólidos solúveis do mosto preparado com diferentes proporções malte:pinhão

Malte (%)	Pinhão sem casca (%)	°Brix 0h	°Brix 60h	Grau de atenuação
100	0	6,90	4,00	0,42
75	25	6,10	3,60	0,41
50	50	5,00	3,10	0,38
25	75	4,80	3,30	0,31
Malte (%)	Pinhão com casca (%)	°Brix 0h	°Brix 60h	Grau de atenuação
100	0	6,20	5,90	0,05
75	25	5,50	5,10	0,07
50	50	4,80	4,30	0,10
25	75	3,50	2,90	0,17

Fonte: autor.

5.2.2 FERMENTAÇÕES

A Tabela 10 apresenta os valores de teor alcoólico da cerveja após determinado tempo de fermentação encontrando-se que a diminuição da quantidade de malte resulta na diminuição do teor alcoólico.

Tabela 10 - Teor alcoólico da cerveja de acordo com o tempo de fermentação

Pinhão (%)	Teor alcoólico			
	72h s.c.	72h c.c.	96h c.c.	144h c.c.
0	2,47	2,82	2,93	3,62
25	2,07	2,59	2,65	2,96
50	1,83	2,08	2,20	1,73
75	1,56	1,94	1,98	2,31

Fonte: autor. s.c sem casca; c.c. com casca.

Considerando que não foi encontrado na literatura resultados referentes à cerveja produzida com pinhão os dados aqui obtidos são comparados com cervejas com outros

adjuntos. No caso da utilização de cevada Curi (2006) empregando um mosto com 12°Brix, 12,6°P de extrato real foi obtida uma cerveja com 4,5% de álcool ao final de 120 horas de fermentação, quando foi utilizado 50% de malte e 50% de cevada. Este fator foi superior ao do presente trabalho no qual não só o adjunto foi diferente como também o teor de extrato foi menor.

As Tabelas 11, 12 e 13 mostram os resultados das análises conduzidas em refratômetro e no Beer Analyser Anton Paar, quanto aos teores de Sólidos Solúveis (°Brix), Álcool (%), Extrato Real (°P), Extrato Original (°P), Grau de Fermentação Real (%), Grau de Fermentação Aparente (%) e densidade (g/cm³), para os casos conduzidos para a obtenção da cerveja preparada com pinhão sem casca (72h) e o pinhão com casca (72, 96 e 144 horas) de fermentação. Observa-se nas Tabelas 11, 12, 13, e 14 que as concentrações de álcool e dos teores de extratos real e aparente estão inferiores aos encontrados por Brunelli (2012) (4,29% e 4,13°P), utilizando mel como adjunto, respectivamente.

Tabela 11 - Análises físico-químicas da cerveja utilizando pinhão com casca como adjunto para o tempo 72 horas

Pinhão com casca	0%	25%	50%	75%	JURADO*, 2002
Álcool (%)	2,82	2,59	2,08	1,94	1,46-5,63
Extrato real (°P)	2,89	3,27	3,01	3,50	2,75-9,37
Extrato original (°P)	7,30	7,30	6,28	6,52	8,00-17,00
Extrato aparente (°P)	1,86	2,33	2,26	2,80	1,57-8,71
GFR** (%)	61,29	56,18	52,82	47,27	24,30-75,90
GFA*** (%)	74,48	60,10	64,06	57,15	
Densidade	1,00543	1,00714	1,00696	1,00907	1,00342-1,03471

GFR: grau de fermentação real (%), *GFA: grau de fermentação aparente (%)

*Jurado (2002) realizou experimentos de produção de cerveja utilizando como adjunto matérias primas sazonais.

Tabela 12- Análises físico-químicas da cerveja utilizando pinhão com casca como adjunto para o tempo 96 horas

Pinhão com casca	0%	25%	50%	75%	JURADO*, 2002
°Brix 96h	3,80	3,60	3,20	3,10	
Álcool (%)	2,93	2,65	2,20	1,98	1,46-5,63
Extrato real (°P)	3,11	3,02	2,83	3,16	2,75-9,37
Extrato original (°P)	7,67	7,16	6,28	6,27	8,00-17,00
Extrato aparente (°P)	2,04	2,05	2,02	2,44	1,57-8,71
GFR** (%)	60,47	58,75	55,80	50,36	24,30-75,90
GFA*** (%)	73,40	71,31	67,77	61,01	
Densidade	1,00608	1,00617	1,00605	1,0077	1,00342-1,03471

GFR: grau de fermentação real (%), *GFA: grau de fermentação aparente (%)

*Jurado (2002) realizou experimentos de produção de cerveja utilizando como adjunto matérias primas sazonais.

Tabela 13 - Análises físico-químicas da cerveja utilizando pinhão com casca como adjunto para o tempo 144 horas.

Pinhão com casca	0%	25%	50%	75%	JURADO*, 2002
°Brix 144h	3,20	2,90	2,70	2,40	
Álcool (%)	3,62	2,96	1,73	2,31	1,46-5,63
Extrato real (°P)	11,70	2,57	3,34	2,70	2,75-9,37
Extrato original (°P)	7,37	7,20	6,05	6,32	8,00-17,00
Extrato aparente (°P)	0,36	1,49	2,72	1,85	1,57-8,71
GFR** (%)	77,67	65,17	45,54	58,14	24,3-75,9
GFA*** (%)	95,12	79,35	55,08	70,67	
Densidade	0,99958	1,00396	1,00877	1,00539	1,00342-1,03471

Grau de fermentação real (%), *GFA: grau de fermentação aparente (%)

*Jurado (2002) realizou experimentos de produção de cerveja utilizando como adjunto matérias primas sazonais.

Na Tabela 14 se encontram resultados da cerveja produzida com pinhão sem casca e nota-se que para as mesmas proporções de malte:pinhão utilizadas, e no mesmo tempo estudado, os valores do teor alcoólico obtidos foram maiores do que de pinhão com casca (Tabelas 11, 12 e 13). Porém, ao se comparar com os valores obtidos por Jurado (2002) que utilizou adjuntos de matérias primas sazonais, esses valores estão dentro da faixa de teor alcoólico obtido (1,46-5,63).

Tabela 14- Análises físico-químicas da cerveja utilizando pinhão sem casca como adjunto, com 72h

Pinhão sem casca	0%	25%	50%	75%	JURADO*, 2002
°Brix 0h	6,20	5,50	4,80	3,50	
°Brix 72h	5,90	5,10	4,30	2,90	
Álcool	2,47	2,07	1,83	1,56	1,46-5,63
Extrato real (°P)	3,33	3,62	3,69	2,6	2,75-9,37
Extrato original (°P)	7,17	6,85	6,55	5,07	8,00-17,00
Extrato aparente (°P)	2,43	2,87	3,04	2,03	1,57-8,71
GFR** (%)	54,58	48,08	44,46	49,36	24,3-75,9
GFA*** (%)	66,12	58,10	53,67	59,94	
Densidade	1,00764	1,00937	1,01002	1,00608	1,00342-1,03471

GFR: grau de fermentação real (%), *GFA: grau de fermentação aparente (%)

*Jurado (2002) realizou experimentos de produção de cerveja utilizando como adjunto matérias primas sazonais.

O fato de haver diferença no teor alcoólico entre as mesmas proporções de pinhão (com ou sem casca) pode ser atribuído ao fato da cerveja produzida com mosto com pinhão com casca possuir um teor de compostos fenólicos superior àquele da cerveja obtida com pinhão sem casca. Os compostos fenólicos podem inibir o desenvolvimento da levedura e possivelmente reduzir a formação de álcool (CORDENUNSI et al, 2004)

5.3 PROCESSO CERVEJEIRO EM ESCALA DE BANCADA

5.3.1 PREPARO DO MOSTO/MOSTURAÇÃO

A Figura 10 ilustra o pinhão triturado adicionado à água com casca durante mosturação, no patamar de temperatura de 78°C, como aparece no termômetro. Nesta Figura verifica-se a consistência e coloração do mosto cervejeiro com 80% de pinhão com casca, enquanto a Figura 11 se refere à amostra com 10% de pinhão sem casca, mostrando a diferença de coloração dos mostos produzidos com valores extremos de pinhão e malte. Pelo fato da concentração de pinhão com casca ser maior como mostrado na Figura 10, nota-se uma coloração mais caramelo, em relação àquela da Figura 11, a que apresenta um tom mais pálido, próximo ao do mosto produzido com malte puro. Pode-se notar também que ao final da mosturação (Figura 11) o bagaço de malte está pastoso e evita-se

mexer neste momento, de modo a formar uma cama de bagaço de malte, que servirá de material filtrante e clarificador. Isto tem como propósito extrair o restante do extrato (principalmente açúcares e polifenóis) para o mosto que foi recirculado, que terá como destino a fervura para adição do lúpulo. Este mosto continha aproximadamente 7 a 8°Brix.

Figura 10 - Medição de temperatura durante mosturação em escala de bancada

Fonte: autor.

Figura 11 - Bagaço de malte e pinhão ao final da mosturação.

Fonte: autor.

5.3.2 FERMENTAÇÕES E MATURAÇÃO

As Tabelas 15 a 20 apresentam os resultados das análises físico-químicas de cerveja (realizadas no Beer Analyser Anton Paar) com 10, 45 e 80% de pinhão com e sem casca utilizado durante mosturação.

As Tabelas 15 e 16 mostram a caracterização físico-química das cervejas obtidas com 10% de pinhão com e sem casca durante processo de mosturação e fermentação. Calculando-se os valores para atenuação, notou-se que foram semelhantes, sendo para cerveja com 10% de pinhão sem casca no valor de 0,61, enquanto para a de 10% com casca o valor foi de 0,60, ambas no tempo final de fermentação.

Tabela 15 - Análises físico-químicas de cerveja com 10% de pinhão com casca utilizado durante mosturação

10% pinhão com casca	0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h
Teor alcoólico	1,03	1,13	1,27	1,35	1,88	2,19	3,03
Extrato real (°P)	7,96	7,42	8,04	7,58	6,04	4,62	3,16
Extrato original (°P)	9,52	9,13	9,95	9,63	8,90	8,00	7,87
Extrato aparente (°P)	7,62	7,05	7,61	7,12	5,38	3,84	2,06
GFR*(%)	17,05	19,46	20,04	22,01	33,2	43,31	60,85
GFA** (%)	19,99	22,85	23,53	26,10	39,58	52,06	73,85
Densidade	1,02832	1,026	1,02796	1,02581	1,0193	1,01317	1,01309

*GFR: grau de fermentação real (%), **GFA: grau de fermentação aparente (%)

Tabela 16 - Análises físico-químicas de cerveja com 10% de pinhão sem casca utilizado durante mosturação

10% pinhão sem casca	0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h
Teor alcóolico	0,96	1,26	3,18	3,1	4,01	4,15	4,04
Extrato real (°)	9,19	11,59	6,00	6,25	5,97	4,62	3,58
Extrato original (°P)	10,61	11,96	10,81	10,93	4,47	10,94	9,08
Extrato aparente (°P)	8,86	11,44	4,87	5,16	9,61	3,14	3,00
GFR* (%)	14,22	3,34	45,96	44,24	13,74	59,14	28,52
GFA** (%)	16,56	4,34	54,94	52,81	16,18	71,28	33,89
Densidade	1,03331	1,04374	1,01728	1,01839	1,03652	1,01042	1,02143

*GFR: grau de fermentação real (%), **GFA: grau de fermentação aparente (%)

As Tabelas 17 e 18 mostram a composição das cervejas obtidas com 45% de pinhão com e sem casca e calculando-se os valores para atenuação estes foram de 0,53 (com e sem casca).

Tabela 17- Análises físico-químicas de cerveja com 45% de pinhão com casca utilizado durante mosturação

45% com casca	0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h	84h
Teor alcoólico (%v/v)	0,29	0,35	0,54	0,58	0,59	0,93	1,38	1,62
Extrato real (°P)	6,50	6,07	5,65	7,74	5,74	4,22	5,90	5,06
Extrato original (°P)	6,94	6,61	6,48	8,62	6,65	5,67	6,48	6,02
Extrato aparente (°P)	6,41	5,96	5,48	7,55	5,56	3,91	5,79	4,86
GFR* (%)	6,57	8,46	13,16	10,60	14,05	26,09	9,25	16,37
GFA** (%)	7,65	9,84	15,40	12,40	16,45	31,01	10,76	19,23
Densidade	1,023	1,021	1,019	1,027	1,019	1,013	1,020	1,017

*GFR: grau de fermentação real (%), **GFA: grau de fermentação aparente (%).

Tabela 18 - Análises físico-químicas de cerveja com 45% de pinhão sem casca utilizado durante mosturação

45% sem casca	0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h	86h
Teor alcoólico	0,25	0,49	1,90	1,97	1,99	2,32	2,34	2,76
Extrato real (°P)	4,35	9,72	7,84	8,91	9,37	7,86	6,94	4,53
Extrato original (°)	8,89	10,45	8,59	10,37	10,84	9,52	10,47	8,77
Extrato aparente (°P)	3,29	9,53	7,67	8,58	9,02	(-)	6,12	3,54
GFR* (%)	52,25	7,39	9,16	14,71	14,32	67,00	35,00	49,57
GFA** (%)	62,98	8,79	31,02	17,26	16,82	81,9	41,57	59,68
Densidade	1,011	1,036	1,028	1,0315	1,0333	1,0020	1,0215	1,0119

*GFR: grau de fermentação real (%), **GFA: grau de fermentação aparente (%). (-) não determinado.

As Tabelas 19 e 20 apresentam os resultados das fermentações contendo 80% pinhão com e sem casca. Para estas proporções foram obtidos valores de atenuação diferentes (0,45 e 0,30 para a cerveja contendo pinhão sem casca e com casca, respectivamente) e estes foram menores em relação às outras duas proporções de pinhão (10 e 45%).

Tabela 19 -Análises físico-químicas de cerveja com 80% de pinhão com casca utilizado durante mosturação

80% pinhão com casca	0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h	84h
Teor alcoólico (%)	0,46	0,67	1,02	1,09	1,37	1,85	2,36	2,54
Extrato real (°P)	2,97	4,12	3,15	3,11	3,19	1,63	3,56	1,16
Extrato original (°P)	3,70	5,17	4,76	4,69	5,01	4,57	4,33	4,39
Extrato aparente (°P)	2,82	3,90	2,79	2,85	3,76	0,94	6,33	1,34
GFR* (%)	20,03	20,83	34,38	39,45	31,34	64,97	87,32	39,47
GFA** (%)	23,83	24,67	41,29	44,82	29,27	79,47	91,77	43,98
Densidade	1,009	1,0127	1,0090	1,0076	1,0130	1,0136	0,9968	1,0033

*GFR: grau de fermentação real (%), **GFA: grau de fermentação aparente (%)

Tabela 20 - Análises físico-químicas de cerveja com 80% de pinhão sem casca utilizado durante mosturação

80% pinhão sem casca	0h	12h	24h	36h	48h	60h	72h	84h
Teor alcoólico (%)	0,912	2,15	2,65	2,66	2,67	2,69	2,71	2,80
Extrato real (°P)	7,18	6,81	5,40	4,76	5,80	5,02	1,81	1,01
Extrato original (°P)	8,59	6,00	7,93	8,84	9,86	8,12	6,09	8,34
Extrato aparente (°P)	6,88	6,05	4,82	3,81	4,85	4,59	0,81	2,00
GFR* (%)	16,99	33,53	32,85	47,34	42,46	42,22	70,86	53,02
GFA** (%)	19,91	39,83	56,91	11,01	50,76	48,28	86,67	64,01
Densidade	1,0251	1,0220	1,0170	1,0130	1,0165	1,0141	1,0012	1,0098

*GFR: grau de fermentação real (%), **GFA: grau de fermentação aparente (%)

Com relação às características físico-químicas observa-se nas Tabelas 15 a 20 que o teor alcoólico aumenta em função da diminuição da porcentagem de pinhão com e sem casca utilizada. Porém, ao se comparar pinhão com e sem casca verifica-se que na presença de casca este valor é menor ainda possivelmente devido a uma inibição da atividade microbológica pelo maior teor de compostos fenólicos, os quais estão naturalmente presentes na casca de pinhão.

Observa-se ainda nas Tabelas 15 a 20 que houve grandes variações entre as composições das bebidas obtidas com diferentes composições de pinhão. A melhor conversão de extrato em álcool, o melhor grau de atenuação bem como a maior

concentração alcoólica foi quando se utilizou a relação 10:90 de pinhão:malte. Porém, a menor concentração alcoólica foi obtida quando se utilizou a proporção 80:20 (Tabelas 19 e 20).

A Figura 12 apresenta o gráfico dos valores de teor alcoólico para as 6 cervejas produzidas, enquanto a Figura 13 apresenta o extrato real (°P), em função do tempo em horas.

Figura 12 - Teor alcoólico para as 6 amostras de cerveja produzidos com pinhão.

Fonte: autor

Figura 13 - Valores de extrato real ao longo de 84h de fermentação para as 6 cervejas produzidas com pinhão.

Fonte: autor

Quanto aos valores de grau de fermentação real e aparente para a amostra (45% pinhão com casca) estes foram baixos em relação aos obtidos com 10 e 80% de pinhão com e sem casca possivelmente por algum erro operacional durante a análise.

Os parâmetros grau de fermentação real e grau de fermentação aparente estão relacionados aos valores de extrato real e extrato aparente, servindo como parâmetro indicativo do possível término da fermentação, mostrando que os açúcares presentes no mosto estão esgotando, para quanto maior o valor destes parâmetros. Os picos apresentados nos valores de extrato real (Figura 13) nas 12 primeiras horas de fermentação, para os valores de extratos, podem ser devido a um desequilíbrio/desbalanço durante a retirada das amostras e descarbonatação que é precedida da análise no Beer Analyser. O fato dos valores de teor alcoólico no tempo inicial serem superiores a zero é devido ao fato de que neste mosto foi adicionado o mosto puro malte contendo a levedura em crescimento atribuindo-se esta pequena formação de álcool durante montagem do inóculo. Os valores de extratos originais menores do que os valores calculados para 10,9°P podem ser atribuídos aos valores de fermentabilidade do pinhão, o qual se admitiu 73%, podendo haver uma variação por conta da diferença de tamanho, massa, teor de umidade e quantidade de açúcares disponíveis no pinhão, além da realização de cozimento em autoclave, o qual diminui a quantidade de açúcares disponíveis no pinhão.

Quanto à densidade ao longo das fermentações (Tabela 20) verificou-se a diminuição dos valores devido à formação de etanol, o qual tende a cair para próximo do álcool puro.

Nota-se também, como os resultados, que o tempo de fermentação para a amostra de 45% pinhão (com e sem casca) e de 80% pinhão (com e sem casca) foram superiores aos das amostras de 10% de pinhão (com e sem casca), poderia ser atribuído ao desbalanceamento da quantidade de carbono/nitrogênio, quando fornecido maiores quantidades de pinhão. Também poderia ser devido à maior necessidade de tempo de adaptação da levedura às condições com adjuntos menos assimiláveis por ela.

Curi (2006), em seus estudos com 4 tratamentos (puro malte, 80% malte e 20% de cevada, 60% malte e 40% de cevada e 50% malte e 50% cevada) encontrou para teor alcoólico, 4,3; 4,4; 4,6 e 4,5, respectivamente, valores estes superiores aos encontrados neste trabalho que teve o máximo de 4,04 e o mínimo 1,62. Isto poder ser atribuído ao fato

de que no trabalho de Curi a curva de mosturação ter sido diferente (40°C/30min e 70°C/30min), além da maior fermentabilidade do adjunto utilizado (cevada), gerando assim um mosto com maior teor de açúcares, e maior facilidade de metabolização destes compostos pela levedura estudada.

Valores superiores para extrato real, fermentabilidade aparente e fermentabilidade real, foram encontrados por Venturini Filho e Cereda (1998), porém estes autores utilizaram hidrolisado de milho e hidrolisado de mandioca, e a proporção malte:adjunto empregada foi de 1:2, encontrando os valores, respectivamente, 12,6 e 12,6°P; fermentabilidade aparente (%) 81,10 e 80,31 e para fermentabilidade real (%) 65,69 e 65,05. Estes valores maiores em relação ao presente trabalho podem ser atribuídos ao fato da curva de mosturação usada por estes autores ter sido diferente, apresentando apenas dois patamares de temperatura, enquanto para este trabalho foram 5. Também devido ao fato dos hidrolisados de milho e mandioca possuírem maior teor de extratos (12,6°P) em comparação aos deste estudo com pinhão (10°P). Também, Venturini Filho e Cereda (1998) usaram o valor inicial de patamar de mosturação de 40°C, faixa de melhor atuação enzimática (proteases), em relação à utilizada no presente trabalho que foi inicial de 47°C e final de 78°C.

5.3.3 ANÁLISE SENSORIAL

Os resultados apresentados referem-se à análise sensorial das seis cervejas produzidas com diferentes proporções de pinhão em escala de bancada.

5.3.3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PROVADORES

Para as análises sensoriais de cerveja com pinhão como adjunto, nas porcentagens de 10, 45 e 80% (com e sem casca) os valores das médias para o parâmetro impressão global (e desvio padrão), idade e número de provadores estão apresentados na Tabela 21.

Observa-se nesta tabela que para todas as análises, a média das idades situou-se entre 20 e 30 anos. Segundo Imar Araújo de Oliveira, superintendente-geral do Centro de Tecnologia de Alimentos e Bebidas, de Vassouras (RJ), em entrevista à revista Exame, em 2010, os que mais bebem são os adultos entre 20 e 40 anos, enquanto Laranjeira et al (2007) fala que são os jovens entre 18 a 24 anos. No caso do presente trabalho é importante considerar que estas análises foram realizadas em ambiente universitário. Para as amostras

contendo 10% de pinhão (com e sem casca), o público era constituído de 16% mulheres e 84% homens. Já para as análises sensoriais para cerveja produzida com 45% de pinhão, 29,6% eram mulheres e 70,4% homens e para 80% de pinhão, 28% mulheres e 72% de homens.

Tabela 21 - Valores médios da avaliação global (e seu desvio padrão), número de provadores e idade.

Porcentagem de pinhão	Idade	Provadores	Avaliação global	Desvio padrão
10% com casca	21,39 (18 a 48)	43 (7M + 36H)	5,30	1,8712
10% sem casca	21,39 (18 a 48)	43 (7M + 36H)	5,06	1,7914
45% com casca	21,51 (18 a 49)	27 (8M + 18H)	3,40	1,5256
45% sem casca	21,51 (18 a 49)	27 (8M + 18H)	4,11	2,2758
80% com casca	22 (18 a 34)	25 (7M + 18H)	3,84	1,0279
80% sem casca	22 (18 a 34)	25 (7M + 18H)	4,60	1,8484

Fonte: autor.

M: mulheres; H: homens.

5.3.3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com relação à análise sensorial realizada para as proporções 10, 45 e 80 de pinhão (com ou sem casca) as Tabelas 22, 23 e 24 apresentam a análise de variância. Para os resultados em que F_{tabelado} for maior que $F_{\text{calculado}}$, as amostras não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 22 - Análise de variância para as amostras contendo 10% de pinhão

Fontes de variação	GL	SQ	QM	$F_{\text{calculado}}$	F_{tabelado} (5% 1,42)
Amostra (2)	1	1,16279	1,16279	0,643974241	4,072
Julgadores (43)	42	206,023	4,90532	2,716651917	
Resíduo	42	75,8372	1,80565		
Total (86)	85	283,023			

Fonte: autor.

Tabela 23 - Análise de variância para as amostras contendo 45% de pinhão

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F_{calculado}	F_{tabelado} (5%, 1,26)
Amostra (2)	1	6,68519	6,68519	3,878512397	4,2283
Julgadores (27)	26	150,37	5,78348	3,355371901	
Resíduo	26	44,8148	1,72365		
Total (54)	53	201,87			

Fonte: autor.

Tabela 24 - Análise de variância para as amostras contendo 80% de pinhão

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F_{calculado}	F_{tabelado} (5% 1,24)
Amostra (2)	1	7,22	7,11	5,918*	4,26
Julgadores (25)	24	78,08	3,25333	2,666	
Resíduo	24	29,28	1,22		
Total (50)	49	114,58			

Fonte: autor. * As amostras apresentam diferença significativa a 5% de probabilidade.

Nota-se que a utilização de 80% de pinhão com e sem casca (Tabela 24) houve diferença significativa entre as amostras a nível de 5% de probabilidade. Como foram avaliadas apenas duas amostras, o teste é conclusivo, apontando que aquela com maior média (80% pinhão sem casca) foi preferida em relação à de 80% pinhão com casca, não necessitando a aplicação de um teste de médias (por exemplo, Tukey).

Nota-se na Tabela 25 que não houve diferença significativa entre as amostras de 10% pinhão com casca e sem casca, e nem entre as amostras de 45% com casca e sem casca, no entanto, entre as amostras de 80% pinhão com e sem casca houve diferença. Entre as amostras de 10% pinhão e de 45% pinhão houve diferença entre as amostras, e entre as amostras de 45% e 80% pinhão (na condição sem casca) não houve diferença estatística. Com base nestes resultados, adotou-se as amostras de cerveja contendo 10% de pinhão com casca e 45% de pinhão sem casca, para escala piloto, pelo fato de querer avaliar amostras diferentes estatisticamente, comparando com uma cerveja comercial.

Tabela 25 - Valores das médias da análise sensorial e desvio padrão para a aceitação (avaliação global) das amostras de cerveja utilizando pinhão.

Porcentagem pinhão	Com casca	Sem casca
10%	5,30 ± 0,86a	5,06 ± 0,79a
45%	3,40 ± 0,57b	4,11 ± 1,27bc
80%	3,84 ± 0,26b	4,60 ± 1,61c

Fonte: autor.

Amostras seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade.

A aceitabilidade das cervejas foi calculada pela divisão da média das notas pela nota máxima obtida no teste. Para a cerveja contendo 10% de pinhão com casca, o valor foi de 58%, enquanto para a versão sem casca foi de 63,25%. Para a de 45% pinhão com e sem casca, foram 56,61% e 45,67%, respectivamente. E, para a de 80% pinhão com e sem casca esta foi de 64% e 57,5%, respectivamente.

Em relação ao teste de preferência, 24 entre 43 provadores preferiram a amostra de cerveja com casca em relação à sem casca, o que não apresenta diferença estatística a um nível de probabilidade de 5% (como apresentado na Tabela 5 do item 3.2.7 tendo o número mínimo de respostas necessárias para estabelecer diferença significativa 29 provadores. Para as amostras de 45% pinhão com e sem casca, dos 27 provadores, 22 preferiram a amostra sem casca, indicando haver diferença significativa a 0,5% de probabilidade. Para a amostra de 80% pinhão com e sem casca, dos 25 provadores, 20 preferiram a amostra sem casca, apresentando também diferença significativa a 0,5% de probabilidade.

5.4 PROCESSO CERVEJEIRO EM ESCALA PILOTO

5.4.1 PREPARO DO MOSTO/MOSTURAÇÃO

A mosturação permitiu a obtenção de um mosto com 8,9 e 8,1°Brix, para as amostras contendo 10% pinhão com casca e 45% pinhão sem casca, respectivamente. Estes mostos após filtrados foram redirecionados para a tina de fervura para a adição de lúpulo.

5.4.2 FERMENTAÇÕES E MATURAÇÃO

A Tabela 26 apresenta para as duas cervejas os valores dos extratos em °Brix (medidos em refratômetro no momento da coleta) para as cervejas contendo 10% de pinhão

com casca e 45% de pinhão sem casca e também os demais dados de teor alcoólico que foram medidos no Alcolyser Beer, bem como o número de células ao longo do processo.

A Tabela 27 apresenta os valores de extratos obtidos (real, original e aparente) em °P (medidos em Alcolyser Beer) para as duas cervejas obtidas. Estes valores diferem dos encontrados na Tabela 26 pelo fato das amostras terem sido congeladas antes das análises as quais foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

A Tabela 28 apresenta os valores de grau de fermentação reale aparente bem como densidade das cervejas obtidas, os quais servem como parâmetro de determinação do final da fermentação, que, ao se aproximar do valor de atenuação, sugere o final do processo. Nota-se nas Tabelas 27 e 28 que os resultados são semelhantes em relação ao fato de que o aumento do valor de extratos ocorre quanto menor for a porcentagem de pinhão empregada. Tal comportamento também foi constatado nos ensaios dos testes preliminares e escala de bancada. Percebe-se que de acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 26 a 28 que o tempo de fermentação para a cerveja contendo 45% de pinhão (120h) foi superior à cerveja contendo 10% de pinhão (96h). Isto se deve possivelmente pelo fato da maior facilidade de assimilação pela levedura em condições de menores quantidades de adjunto (ou, quantidades maiores de malte de cevada, o qual supre as necessidades energéticas e metabólicas da levedura). Quanto ao número de células ao longo do processo observa-se tanto para pinhão com casca quanto sem casca um aumento destas até o tempo de 72h seguido de decréscimo até o final do processo. Possivelmente isto é devido à diminuição de nutriente bem como formação de álcool neste período de cultivo.

Quanto ao consumo de extrato observa-se na Tabela 27 que nas primeiras 12h este foi superior para a amostra de 10% pinhão com casca em relação a 45% de pinhão sem casca, obtendo valores próximos no tempo de 24h.

Para a densidade nota-se na Tabela 28 que os valores diminuíram ao longo da fermentação, assim como notado para a escala de bancada, que, com a formação de álcool ao longo da fermentação, o valor de densidade tende a cair para valores próximos ao do álcool puro.

Tabela 26 - Valores de tempo, extrato real (°Brix), teor alcoólico e número de células/mL ($\times 10^7$) para as cervejas contendo 10% de pinhão com casca e 45% de pinhão sem casca.

Tempo	Extrato (°Brix) 10% com casca	Teor alcoólico (%)	Número de células/mL ($\times 10^7$)	Extrato (°Brix) 45% sem casca	Teor alcoólico (%)	Número de células/mL ($\times 10^7$)
0h	9,90	0,06	0,98	8,40	0,07	0,92
12h	7,30	0,27	1,48	7,10	0,14	1,39
18h	7,10	0,50	2,09	8,00	0,16	1,94
24h	7,10	0,42	4,32	7,30	0,31	3,27
36h	5,80	1,06	5,17	6,80	0,36	4,86
48h	4,10	2,33	6,44	6,60	0,43	5,94
60h	3,60	3,03	5,96	5,70	0,68	5,01
72h	3,50	3,00		5,40	0,91	
84h	3,50	3,00	4,02	4,70	1,52	3,18
96h	3,50	1,97		4,10	2,25	
108h			2,96	4,10	1,99	1,14
120h				3,90	1,83	

Fonte: autor.

Quanto aos valores de atenuação para as cervejas contendo 10% pinhão com casca e 45% pinhão sem casca foram, respectivamente, 0,64 e 0,51, valores semelhantes aos de bancada.

Tabela 27 - Valores de teor de extrato real (°P), extrato original (°P) e extrato aparente (°P) das cervejas contendo 10% de pinhão com casca e de 45% pinhão sem casca.

Tempo	Extrato real (°P) 10% com casca	Extrato original (°P)	Extrato aparente (°P)	Extrato real (°P) 45% sem casca	Extrato original (°P)	Extrato aparente (°P)
0h	7,46	7,07	7,17	7,24	7,36	7,28
12h	7,01	7,55	6,91	7,22	7,43	7,17
18h	n.d.	n.d.	n.d.	7,06	7,30	7,00
24h	6,75	7,40	6,60	6,86	7,33	6,74
36h	4,58	6,23	4,18	6,68	7,24	6,55
48h	3,52	7,14	2,64	6,65	7,31	6,49
60h	2,65	7,38	1,52	4,96	6,03	4,70
72h	n.d.	n.d.	n.d.	3,67	5,09	3,32
84h	2,60	7,29	1,67	2,99	5,38	2,41
96h	1,72	4,85	0,97	2,74	6,26	1,89
108h				1,19	4,22	0,46
120h				2,10	4,99	1,40

Fonte: autor. n.d. = não determinado.

Tabela 28 – Valores de grau de fermentação real (GFR) (%), grau de fermentação aparente (GFA) (%) e densidade (g/cm^3) das cervejas obtidas com 10% de pinhão com casca e de 45% pinhão sem casca.

Tempo	10% pinhão com casca			45% pinhão sem casca		
	GFA(%)	GFR(%)	Densidade (g/cm^3)	GFA (%)	GFR (%)	Densidade (g/cm^3)
0h	1,60	1,32	1,02761	1,91	1,58	1,02673
12h	6,84	5,69	1,02550	3,48	2,89	1,02655
18h	-	-	0,00904	4,14	3,44	1,02584
24h	10,80	8,98	1,02422	8,01	6,66	1,02481
36h	32,86	27,07	1,01456	9,55	6,93	1,02402
48h	63,00	51,70	1,00850	11,25	9,36	1,02378
60h	79,46	64,98	1,00409	21,94	18,09	1,01664
72h	-	-	0,00907	34,77	28,50	1,01117
84h	79,79	65,25	1,00392	55,24	45,18	1,00758
96h	80,00	65,07	1,00196	69,90	57,14	1,00758
108h				*	*	0,00553
120h				58,61	58,61	1,00364

Fonte: autor. * Dado fora da faixa. GFA: grau de fermentação aparente; GFR: grau de fermentação real.

A Figura 14 apresenta em gráfico os resultados referentes ao teor alcoólico e extratos da Tabela 26 de forma a facilitar a compreensão dos dados para as cervejas produzidas com 10% de pinhão com casca e 45% pinhão sem casca. Ela ilustra o decréscimo dos teores de extrato real e aumento dos teores de álcool ao longo do processo (120h).

Figura 14 – Consumo de extratos e formação de álcool para as cervejas contendo 10% pinhão com casca e 45% pinhão sem casca

Fonte: autor.

Em trabalhos reportados na literatura como o realizado por Andrade (2007) que estudou a produção de cerveja contendo arroz preto como adjunto, foram encontrados valores médios e desvio padrão de teor alcoólico de $4,70 \pm 0,69$. Este valor maior em relação ao máximo obtido no presente trabalho com pinhão 10% com casca (3,03) pode ser explicado pelas porcentagens de malte (65%) e arroz preto (35%) serem diferentes do presente estudo. Além disso pela diferença de concentração inicial de extrato ($12,36^\circ\text{P}$) e temperatura de fermentação (15°C) que foram superiores do presente trabalho. De acordo com Carvalho (2009), em seus estudos com fermentação do mosto com banana nas condições concentração inicial de açúcares de 12°P , temperatura de 10°C , os valores encontrados para teor alcoólico foram inferiores ao deste trabalho nas primeiras 72h, em relação à amostra de cerveja contendo 10% de pinhão com casca. Para a amostra contendo 45% de pinhão sem casca, os valores deste trabalho foram superiores nas primeiras 60h.

Pode-se notar na Figura 14 que para a proporção de 45% sem casca, o tempo de fermentação foi o mesmo (120h), enquanto para a de 10% com casca o tempo foi de 96h, obtendo, para cada uma, 3,08% e 3,46% de álcool, respectivamente. Um dos fatos para os valores finais de teor alcoólico encontrados por Carvalho (2009) terem sido superiores pode ser atribuído ao fato de a curva de mosturação utilizada por ele tenha os valores de

35°C/20min, seguido dos valores 45°C/10min; 52°C/10min; 62°C/20min 72°C/20min e 78°C/10min, diferentes das utilizadas neste estudo.

Em outro ensaio realizado por Carvalho (2009) utilizando banana como adjunto, com a concentração de extrato de 12°P e temperatura de 15°C (esta superior ao deste estudo, 12°C), os valores de teor alcoólico foram superiores (tanto para 10% pinhão com casca e 45% pinhão sem casca) após 42h de fermentação, indicando que o aumento da temperatura pode ter favorecido a formação de álcool (5,30% em 72h de fermentação) já que o máximo teor alcoólico neste estudo foi 3,03.

5.4.3 ANÁLISE SENSORIAL

Os resultados apresentados referem-se às análises sensoriais das duas cervejas produzidas com pinhão 10% com casca e 45% pinhão sem casca em relação à cerveja comercial.

5.4.3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PROVADORES

A Tabela 29 apresenta as médias de idade, consumo mensal em litros, número total de provadores (com valores para número de mulheres e homens), enquanto a Tabela 30 apresenta a média da impressão global e seu desvio padrão.

Tabela 29 – Valores médios para idade, consumo mensal e número de provadores.

	Idade (anos)	Consumo mensal (litros)	Número de provadores
Média global	30,11	4,76	44
Média (mulheres)	29,35	1,895	20 (45%)
Média (homens)	30,75	7,15	24 (55%)

Fonte: autor

Nota-se na Tabela 29 que em relação à distribuição das idades dos provadores durante a análise sensorial da escala piloto o número maior de provadores está entre 25 a 34 anos (41%), seguido das idades de 18 a 24 anos (38,65%). Pessoas com idade superior a 45 anos são menos frequentes (11,37%). Aqueles com idade entre 35 e 45 compreenderam 4,5%, bem como para aqueles com idade acima de 60 anos. Estes dados são semelhantes aos encontrados por Laranjeira et al (2007) que relata que aqueles que mais consomem

bebida alcoólica são os jovens entre 18 a 24 anos. Também é importante considerar que esta faixa etária pode ser justificada pelo fato de que o local onde foram realizadas as análises era um ambiente universitário.

5.4.3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A Tabela 30 apresenta as médias dos resultados das avaliações dos atributos sensoriais acompanhados de seu desvio padrão. Foram omitidas da Tabela 28 os caracteres indicativos de diferença significativa entre as amostras, pois em todos os casos, as cervejas produzidas com pinhão não diferiram entre si a nível de probabilidade de 5%, mas ambas diferiram em relação à amostra comercial, podendo ser comprovado pelas Tabelas posteriores onde foram apresentadas as análises de variância para cada atributo.

Tabela 30 – Médias dos resultados das avaliações dos atributos coloração, aroma, gosto, impressão global e intenção de compra, acompanhados de seu desvio padrão.

	Coloração	Aroma	Gosto	Impressão global	Intenção de compra
10% pinhão com casca	6,68 ± 1,53	5,97 ± 1,91	4,88 ± 2,21	5,27 ± 2,12	4,45 ± 2,21
45% pinhão sem casca	6,59 ± 1,33	5,88 ± 1,78	4,38 ± 2,14	4,86 ± 2,00	3,86 ± 2,21
Comercial	7,38 ± 1,24	6,95 ± 1,27	6,81 ± 1,66	6,81 ± 1,67	6,45 ± 2,01

Fonte: autor

A Tabela 31 mostra a análise de variância (ANOVA) para o atributo coloração, e no caso da Figura 15 esta apresenta a característica visual das duas cervejas produzidas contendo pinhão, sendo à esquerda aquela com 10% pinhão com casca e à direita aquela com 45% pinhão sem casca.

Tabela 31 – Análise de variância (ANOVA) para atributo coloração das três amostras avaliadas

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F _{calculado}	F _{tabelado (5%, 2,43)}
Amostra (3)	2	16,68	8,34	10,86*	3,119
Julgadores (44)	43	178,62	4,15	5,41*	
Resíduo (85)	86	65,98	0,76		
Total (132)	131	261,295			

Fonte: autor.

Figura 15 – Fotos das cervejas obtidas utilizando pinhão como adjunto. À esquerda, a cerveja produzida com 10% de pinhão com casca, à direita a amostra contendo 45% de pinhão sem casca.

Fonte: autor.

Como o teste t de Student determinou que as amostras diferem entre si a 5% de probabilidade, aplicou-se o teste de Tukey, encontrando o valor de diferença mínima significativa (dms) de 0,43. Entre as duas amostras contendo pinhão não houve diferença entre elas para o atributo coloração (valor 0,091, inferior à dms), no entanto, ambas foram diferentes da amostra comercial, apresentando, em relação às amostras de 10% pinhão com casca, e 45% pinhão sem casca, os valores da diferença de médias entre eles foram 0,70 e 0,79, respectivamente.

Os valores das médias do atributo coloração para cada amostra foi: 6,68 (10% pinhão com casca), 6,59 (45% pinhão sem casca) e 7,38 (amostra comercial de cerveja tipo Pilsen). De acordo com Araújo; Silva; Minim (2003), avaliando seis amostras de cervejas, entre eles o atributo cor, obteve-se para uma cerveja de trigo tipo “Ale” produzida em microcervejaria o escore de 6,06. Outras produzidas em microcervejarias foram: “Lager” tipo amber, com escore de 9,98. Entre as cervejas “Lager” tipo Pilsen o escore foi de 4,2133, e uma outra “Lager” tipo Pilsen foi de 3,2511. Duas amostras de mercado “Lager” tipo Pilsen foram avaliadas, obtendo para cada uma os escores de 0,38 e 1,29, valores estes inferiores ao deste estudo com cerveja de pinhão.

A Tabela 32 apresenta a análise de variância (ANOVA) para o atributo aroma das 3 cervejas avaliadas (10% pinhão com casca, 45% pinhão sem casca) e cerveja comercial.

Tabela 32 – Análise de variância (ANOVA) para atributo aroma das 3 amostras avaliadas

Fator de variação	GL	SQ	QM	F_{calculado}	F_{tabelado}
Amostras (3)	2	30,86	15,43	9,49*	3,119
Julgadores (44)	43	223,51	5,197	3,19	
Resíduo (85)	84	139,81	1,62		
Total (132)	131	394,18			

Fonte: autor.

Nota-se nesta tabela que com o aumento da concentração de pinhão no mosto, as médias das notas das cervejas puro malte não se alteraram, visto que na análise de variância, a diferença mínima significativa foi de 0,6402, não tendo atingido este valor entre as duas porcentagens com pinhão (0,091). Enquanto a de 10% pinhão com casca e a amostra comercial houve diferença (0,97), bem como para a de 45% pinhão sem casca e a cerveja comercial (1,06), demonstrando que os provadores prefeririam as cervejas com odor mais brando de malte. Esse comportamento pode estar relacionado ao padrão de referência do painel de provadores. As cervejas do tipo Pilsen são as mais disponíveis e consumidas no mercado nacional (SOARES, 2011), e a maioria delas são fabricadas com malte e adjuntos (grits de milho).

Os valores de médias obtidas neste estudo para as avaliações sensoriais do atributo aroma de cerveja contendo 10% de pinhão com casca, 45% pinhão sem casca e uma

amostra comercial foram 5,97, 5,88 (localizando entre não gostei nem desgostei e gostei ligeiramente) e 6,95 (entre gostei ligeiramente e gostei moderadamente). Estes valores foram superiores aos encontrados por Silva et al., (2009) em seus estudos com formulações de cervejas de médio (2% a 4,5%) e alto teor alcoólico (4,5% a 7%), comparando com uma cerveja comercial, tendo obtido os escores 4,13, 4,86 e 5,48, respectivamente.

No caso do atributo gosto a média das notas da cerveja elaborada com pinhão (tanto a de 10% pinhão com casca como 45% pinhão sem casca) foi menor que a da cerveja comercial. A análise de variância para as três amostras avaliadas para o atributo sabor encontra-se na Tabela 33.

Tabela 33 – Análise de variância para o atributo gosto das três amostras avaliadas

Fator de variação	GL	SQ	QM	F_{calculado}	F_{tabelado}
Amostras (3)	2	110,92	55,46	27,55*	3,119
Julgadores (44)	43	610,99	14,2	7,06*	
Resíduo (87)	86	173,08	2,01		
Total (132)	131	894,99			

Fonte: autor.

Para o parâmetro gosto, constatou-se que há diferença significativa entre as amostras. O valor de diferença mínima significativa foi de 0,71, indicando que não houve diferença entre as duas amostras com pinhão (0,5), mas sim uma diferença em relação à comercial e também com a de 10% pinhão com casca (1,93), bem como para a de 45% pinhão sem casca (2,43). Os valores das médias encontradas foram, para cerveja com 10% pinhão com casca, 4,88, e para 45% pinhão sem casca 4,38, as quais encontram-se entre desgostei ligeiramente e não gostei nem desgostei; para a amostra comercial a média foi 6,8, localizada entre gostei ligeiramente e gostei moderadamente.

Para o parâmetro impressão global a Tabela 34 apresenta a Análise de Variância (ANOVA) para as três amostras estudadas. O teste de aceitação indicou que a cerveja comercial foi preferida em relação às amostras contendo pinhão ao nível de 5% de probabilidade. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Andrade (2007), porém em estudos com arroz preto como adjunto. Nestas pesquisas foi constatada uma

preferência maior dos provadores pelo chope líder de mercado (dos 44 provadores, 14 preferiram a com arroz preto, enquanto os outros 30 preferiram a de mercado).

Tabela 34 – Análise de Variância (ANOVA) para o atributo impressão global das três amostras avaliadas

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F_{calculado}	F_{tabelado} (5% 2,43)
Amostras (3)	2	93,51	46,75	26,14	3,11
Julgador (44)	43	336,63	7,82	4,37	
Resíduo (85)	86	153,82	1,78		
Total (132)	131	583,96			

Fonte: autor.

Ainda de acordo com o parâmetro avaliação global, os resultados da análise sensorial obtidos por Brunelli (2012) que trabalhou com mel como adjunto foram superiores aos encontrados neste trabalho com pinhão. Isto pode ser explicado pelo fato de ela ter utilizado diferentes teores de extratos com o adjunto mel, indicando que este interferiu significativamente na avaliação global das cervejas ($p=0,0148$). Os provadores preferiram as cervejas produzidas com 40% de mel, a qual obteve para a avaliação global o valor médio de 6,63 (para $11^\circ\text{Brix} = 11,64^\circ\text{P}$), estando na faixa localizada entre gostei ligeiramente e gostei moderadamente. Neste estudo, a cerveja contendo 10% de pinhão com casca e 45% de pinhão sem casca não apresentaram diferença significativa, apresentando médias de 5,27 e 4,86, respectivamente, situando-se, cada uma, entre não gostei nem desgostei e gostei ligeiramente; e desgostei ligeiramente e não gostei nem desgostei.

Para o parâmetro intenção de compra, a Tabela 35 apresenta a análise de variância (ANOVA) para as três amostras avaliadas.

Tabela 35 – Análise de variância (ANOVA) para o atributo intenção de compra das três cervejas avaliadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F _{calculado}	F _{tabelado} (5% 2,43)
Amostras (3)	2	162,24	81,12	31,55*	3,19
Julgador (44)	43	375,90	8,74	3,40	
Resíduo (85)	86	221,09	2,57		
Total (132)	131	759,24			

Fonte: autor.

Como houve diferença significativa entre as três amostras para o atributo intenção de compra, realizou-se um teste de Tukey, obtendo o valor para diferença mínima significativa (dms) o valor de 0,80. A comparação entre a cerveja comercial e aquela contendo 10% de pinhão com casca houve diferença significativa, bem como para a de 45% pinhão sem casca e a comercial. Os escores médios para este atributo foram: para a cerveja contendo 10% de pinhão com casca, 4,45, e 45% pinhão sem casca, 3,86, situando-se entre talvez comprasse/talvez não comprasse e provavelmente não compraria. Para a cerveja comercial, o escore médio foi de 6,45, localizando entre talvez comprasse/talvez não comprasse e provavelmente compraria.

Dos 44 provadores selecionados nos testes sensoriais, 12 comprariam a cerveja contendo 10% pinhão com casca (sendo 8 homens e 4 mulheres), 11 comprariam a cerveja contendo 45% pinhão sem casca (sendo 8 homens e 3 mulheres), e 30 comprariam a amostra comercial (68%) (sendo 16 homens e 14 mulheres). Isto foi avaliado pelo atributo intenção de compra, no qual as amostras que obtiveram escores acima de 6 foram consideradas aquelas que seriam compradas pelos consumidores. Estes resultados foram inferiores aos encontrados por Santos (2011) que avaliou a intenção de compra para cerveja com arroz preto como adjunto em que do total de provadores (63), 43 comprariam a cerveja (68,3%), 18 não comprariam a cerveja (28,6%) e 2 não responderam (3,2%). Pode-se constatar também que o valor encontrado por Santos (2011) foi semelhante ao encontrado para a amostra de cerveja comercial usada neste estudo (68,8%).

A Figura 16 apresenta o gráfico aranha com os atributos sensoriais avaliados para as três amostras estudadas. Em azul estão os valores para a cerveja contendo 10% de pinhão com casca, em vermelho os valores para a cerveja contendo 45% de pinhão sem casca,

enquanto em verde os valores para a amostra comercial. Nota-se que o parâmetro que mais se aproximou entre as três amostras avaliadas foi a coloração. O que mais se afastou foi o parâmetro intenção de compra, no qual os resultados demonstram que o público está habituado a consumir cervejas contendo malte e adjuntos (grits de milho), ou seja, uma preferência dos provadores pelo aroma mais brando de malte. Isto também foi notado para o aroma, o qual os consumidores preferem, também o odor (aroma) mais brando destas.

Figura 16 – Gráfico aranha para atributos sensoriais das três amostras avaliadas

Fonte: autor.

6 CONCLUSÕES

- O pinhão com ou sem casca pode ser utilizado junto ao malte na produção de cerveja
- A proporção de pinhão e malte é dependente da presença ou não de casca, já que nas mesmas proporções, a cerveja produzida com pinhão sem casca apresentou teor alcoólico superior em relação àquela com casca.
- Os melhores resultados de parâmetros físico-químicos e de rendimento em etanol foi para a proporção 10:90 pinhão:malte (pinhão sem casca) para a escala de bancada, enquanto para a piloto foi a 10:90 pinhão:malte (pinhão com casca).
- A aceitação do consumidor durante a análise sensorial demonstrou que para aumentar o teor de pinhão em relação ao malte, é necessária a retirada da casca.
- Para a análise sensorial de cerveja produzida em escala piloto, de 10% pinhão com casca e 45% pinhão sem casca, estas não diferiram entre si em todos os parâmetros avaliados, mas comparada à comercial ambas diferiram.
- A ampliação de escala de 2L para 120L de produção de cerveja utilizando pinhão como adjunto de malte revelou que as características de aceitação sensorial foram semelhantes ou superiores no quesito impressão global.

7 DIFICULDADES ENCONTRADAS

A proposta inicial deste projeto era utilizar o pinhão como adjunto cervejeiro para agregar valor aos produtores de pinhão e também obter uma cerveja com uma coloração avermelhada. Os primeiros testes para obtenção do mosto com o pinhão com 100% de casca proporcionaram uma certa adstringência no mosto. Decidiu-se então retirar parte da casca do pinhão, para diminuir esta adstringência. Entretanto a maior dificuldade foi encontrar um descascador de pinhão. A fim de diminuir a proporção de casca no pinhão, resolveu-se passar o pinhão em moinho de martelo e, então a porção moída adicionou-se água e foi aguardado alguns minutos para que as cascas flutuassem na superfície da água e fossem retiradas. Porém torna-se impossível determinar imediatamente a proporção exata de casca retirada, assim como a proporção que permaneceria junto com a massa de amido da semente. Para estudos futuros, estará sendo proposto um protótipo de um equipamento para separar as cascas do pinhão com maior precisão.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, C.M. **Obtenção de chope usando arroz preto (*Oryza sativa*) como adjunto de malte**. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo Escola de Engenharia de Lorena. 2007. P. 78. Lorena.

ANGELINO, S.A.G.F. **Beer**. Food Sci. Technol., 44, pp.581-616. 1991.

ARAÚJO, F.B.; SILVA, P.H.A.; MINIM, V.P.R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas-SP, v.23, n. 2, p.121-128. 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12994: métodos de análise sensorial de alimentos e bebidas: terminologia. Rio de Janeiro, 1993. 2p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13088: teste de comparação pareada em análise sensorial. Rio de Janeiro, 1994. 7p.

BEZERRA et al. Parâmetros climáticos e variação de compostos fenólicos em cevada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.9, p.1546-1552, 2013.

BICUDO, S. C. W. **Caracterização de amidos nativos de diferentes fontes botânicas através de técnicas termoanalíticas e teor de amilose**. 2008. 116p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR.

BOTELHO, B.G. **Perfil e teores de aminas bioativas e características físico-químicas em cervejas**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia, UFMG, Belo Horizonte, MG. 75p. 2009.

BOULTON, C.; QUAIN, D. **Brewing Yeast e Fermentation**. Blackwell Publishing. Pp. 46-48, 108-148. 2001.

BRADLEE, L. H. Adjuntos. In: BRODERICK, H. M. (Dir.). **El cervecero em la practica: um manual para la industria cervecera**. 2. ed. Lima: Graficas SUR, 1977. cap. 4, p. 53-82.

BRADLEY, L.L. Uses of iso-alpha acids and chemically modified products. **Ferment**, 10, 48-50. 1997.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Decreto 6871 de 4 de julho de 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em: 15 de março de 2013.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Portaria nº 166, de 12 de abril de 1977. Disponível em: <http://www.claspar.pr.gov.br/arquivos/File/pdf/cevadamalte166_77.pdf>. Acesso em: 17 jan.2013.

BRIGGS, D.E.; BOULTON, C.A.; BROOKES, P.A.; STEVENS, R. **Brewing: Science and Practice**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press. p662. 2004.

BRUNELLI, L.T. **Produção de cerveja com mel: características físico-químicas, energética e sensorial**. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”. 2012. P. 103. Botucatu

CAPELLA, A. C. V.; PENTEADO, P. T. P. S.; BALBI, M. E. Semente de *Araucaria angustifolia*: aspectos morfológicos e composição química da farinha. **Boletim CEPPA**, Curitiba v. 27, n. 1, p. 135-142. 2009

CARVALHO, A. L. de. Contribuição ao estudo da biologia na Estação Florestal dos Pardos. **Anuário Brasileiro de Economia Florestal**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 3. p. 208-222, 1950.

CARVALHO, G.B.M. **Obtenção de cerveja usando banana como adjunto e aromatizante**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo Escola de Engenharia de Lorena. 2009. P. 163. Lorena.

CARVALHO, G.B.M.; SILVA, D.P.; TEIXEIRA, J.A.; ALMEIDA E SILVA, J.B. In: VENTURINI, 2011. Cap 23. In: Indústria de Bebidas: Inovação, Gestão e Produção.

CLADERA-OLIVERA, F.; NOREÑA, C.Z.P.; WADA, K.; MARCZAK, L.D.F. Alternativas tecnológicas do processamento e armazenamento do pinhão. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Seminário do Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. **Oktober Fórum** 2005. 8p.

CONFORTI, P.A.; LUPANO, C.E. Selected Properties of *Araucaria angustifolia* and *Araucaria Araucana* Seed Protein, **International Journal of Food Properties**, 14:1,84-91. 2010.

CORDENUNSI, B.R.; MENEZES, E.W.; GENOVESE, M.I.; COLLI, C.; GONÇALVES DE SOUZA, A.; LAJOLO, F.M. Chemical composition and glycemic index of brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2004, 52, 3412–3416.

CORRÊA, M. F.; HELM, C.V. Caracterização da composição nutricional do pinhão *in natura* e cozido (*Araucaria angustifolia*). **IX EVINCI**. 20 a 21 de outubro de 2010. Colombo.

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

DAROLT, L.M.; HELM, C.V. **Caracterização da composição química e compostos fenólicos do pinhão**. Anais do XI Evento de Iniciação Científica da Embrapa Florestas. 2012.

DAUDT, R.M. **Estudo das propriedades do amido de pinhão visando a sua utilização como excipiente farmacêutico**. 2012. 125p. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

DOMBEK, K.M.; INGRAM, L.O. Magnesium limitation and its role in apparent toxicity of ethanol during yeast fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, 52, 975-981. 1986.

DRAGONE, G. **Fermentação primária para produção de cervejas de altas densidades por processo contínuo utilizando leveduras imobilizadas em bagaço de malte**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo Escola de Engenharia de Lorena. 2007. P. 140. Lorena.

DRAGONE, G.; ALMEIDA E SILVA, J.B. Cerveja. In: FILHO, V.; GASTONI, W. coord. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia** – São Paulo: Editora Blucher, 2010, v. 1. p. 15-48.

DUFOUR, J. P.; MALCORPS, P. **Ester synthesis during fermentation: enzyme characterization and modulation mechanism**. Proc. 4th Aviemore Conf. Malting, Brewing and Distilling, Aviemore, 23-26 May. Institute of Brewing, London. Pp. 137-151. 1994.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). <http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/efb/index_especies.htm>. Acesso em: 07/03/2012.

EXAME.COM. **Setor de microcervejarias cresce no Brasil**. 2010. Disponível em: <<http://exame.abril.com.br/pme/noticias/setor-microcervejarias-cresce-brasil-573642>>. Acesso em: 28 de Junho de 2014.

FERREIRA, A.G. *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze: **germinação da semente e desenvolvimento da plântula**. (Tese Doutorado). São Paulo: USP, 1977. 123p.

FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998.

GIFFORD, E.M.; FOSTER, A.S. **Morphology and Evolution of Vascular Plants**. – W.H. Freeman Co., New York 1989.

GONÇALVES, D. Indústria de insumos trabalha pesado para garantir diversidade de sucos. **Revista Engarrafador Moderno**, São Paulo-SP, n.185, p.20-24, 2009. Disponível em: <http://www.engarrafadormoderno.com.br/edições/Edi%E7%E3o_185.pdf>. Acesso em: 20 março 2014.

GOODEY, A.R.; TUBB, R.S. Genetic and biochemical analysis of the ability of *Saccharomyces cerevisiae* to decarboxylate cinnamic acids. **Journal of General Microbiology**, 128, 2615-2620. 1982.

HAINES, R. J.; PRAKASH, N. **Proembryo development and suspensor elongation in *Araucaria Juss.*** – Aust. J. Bot. 28: 511-522, 1980.

HANSEN, M.M.; ROCKEN, W.; EMEIS, C.-C. Construction of yeast strains for the production of low carbohydrate beer. **Journal of the Institute of Brewing**, 96, 125-129. 1990.

HARDWICK, W.A. **The Properties of Beer**. Handbook of Brewing. Hardwick, W.A.(ed). Marcell Dekker Inc. New York. Pp. 551-585. 1995.

HARTWELL, L.H.; UNGER, M.W. Unequal division in *Saccharomyces cerevisiae* and its implications for the control of cell division. **Journal of Cell Biology**, 75, 422-435. 1977.

HENDGES, D. **Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto**. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial). Universidade de São Paulo Escola de Engenharia de Lorena. 2014. P. 140. Lorena.

HOLLMAN, P. C. H. Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects. **J. Sci. Food Agric.** 2001, *81*, 842-852.

HUGUES, P.S.; BAXTER, E.D. **Beer: Quality, Safety and Nutritional Aspects**. Royal Society of Chemistry. 138. 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de Alimentos**. 2008.

JACKSON, M. **Cerveja**. Guia Ilustrado Zahar. 2ªEd Rio de Janeiro. 2010. 288p.

JURADO, J. **The Brewer International**, 2(9), 33. 2002.

KEMBER, R.M.J. Hop products and their usage – a review. **Ferment**, 2, 38-41. 1990.

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

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. 2.ed. Berlin: Vlb Berlin, 1999.726p.

LANCASHIRE, W.E.; CARTER, A.T.; HOWARD, J.J. WILDE, R, J. Superattenuating brewing yeast. **Proceedings of the 22nd Congress of the European Brewery Convention**, Zurich, 491-498. 1989.

LARANJEIRA, R; PINSKY, I; ZALESKI, M; CAETANO, R. **Levantamento Nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira**. Elaboração, redação e organização: Revisão Técnica Científica: Paulina o Carmo Arruda Vieira Duarte. Brasília: Secretaria Nacional de Antidrogas, 2007. Disponível em:
<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_padroes_consumo_alcool.pdf>.
Acesso em: 28 de Junho de 2014.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices**. 2nd edition. Springer. 595p. 2003.

LEITE, D. M. C. **Avaliação Nutricional da Semente do Pinheiro-do-Paraná (*Araucaria angustifolia*)**. Defesa de tese para obtenção de título de doutor. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre, Brasil, janeiro 2007.

LENTINI, A.; TAKIS, S.; HAWTHORNE, D.B.; KAVANAGH, T.E. The influence of trub on fermentation and flavor development. Proceedings of the 23rd Convention Institute of Brewing (Asia Pacific Section), Sydney, 89-95. 1994.

LODDER, J. **The Yeasts, a Taxonomic Study**, 2nd Edition, North Holland, Amsterdam. 1970.

MACWILLIAM, I.C. Wort composition – a review. **Journal of the Institute of Brewing**, 74, 38-54. 1968.

MATOS, J.R. **O Pinheiro Brasileiro**. São Paulo: Grêmio Politécnico, 1972. p.620.

MEILGAARD, M.C.; PEPPARD, T.L. **The flavor of beer**. Developments in Food Science, Vol. 3, Food Flavours, Part B, Morton, I.D. and Macleod, A.J. (eds). Elsevier, Oxford, pp. 99-170. 1986.

MESTRES, C. **Los estados físicos del almidón**. In: Conferencia Internacional del almidón. Quito. Anais... Quito, p.2. 1996.

MINIM, V.P.R. **Análise Sensorial: Estudos com Consumidores**. 3^a Ed. Viçosa, MG.: Ed. UFRV. 332p. 2013.

MORADO. **Larousse da cerveja**. Larousse do Brasil. 1^a Ed. 2009.

MOURA, L.R.C. et al. Um experimento sobre atributos extrínsecos da cerveja por meio de teste cego. In: XII SEMINÁRIOS em ADMINISTRAÇÃO – SEMEAD, 2009, 14p. São Paulo-SP. Anais... São Paulo: FEA/USP. Disponível em: <http://www.ead.fea.usp.br/semead/12semead/resultado/trabalhosPDF/423.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2014.

MUCCILLO, R. C. S. T. **Caracterização e Avaliação de Amido Nativo e Modificado de Pinhão Mediante Provas Funcionais e Térmicas**. 2009. 156p. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS

OETTERER, M. **Tecnologia de Obtenção de Cerveja**. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Tecnologia%20de%20obtencao%20cerveja.pdf>. Acesso em: 5 de Julho de 2014.

OLSEN, A. The role of wort turbidity in flavor and flavor stability. Proceedings of the European Brewery Convention, Monograph VII, Copenhagen, 223-236. 1981.

PAIVA, G.M. **Estudo do processamento e mercado de cervejas especiais no Brasil.** Trabalho de Conclusão de Curso. Centro Educacional da Fundação Salvador Arena. Faculdade de Tecnologia Termomecânica, São Bernardo do Campo. 90p. 2011.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e Técnica Dietética.** São Paulo: Manole, 2003.

PREEDY, V.R. **Beer in Health and Disease Prevention.** Academic Press, 430p. 2009.

REITZ, R., KLEIN, R.M. e REIS, A. (1978). Projeto **Madeira de Santa Catarina**, Separata 28 de Sellowia-Herbário Barbosa Rodrigues. Itajaí, Brazil.

SANTOS, C.D.E. **Avaliação do emprego do arroz preto (*Oryza sativa* L.) submetido a hidrólise enzimática como adjunto na fabricação de cerveja.** (2011). Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo Escola de Engenharia de Lorena. 2009. P. 75. Lorena.

SCHISLER, D.O.; RUOCCO, J.J. MABEE, M.S. Wort trub and its effect on fermentation and beer flavor. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 40, 57-61. 1982.

SIEBERT, K.J.; BLUM, P.H.; WISK, T.J.; STENROOS, L.E.; ANKLAM, W.J. The effect of trub on fermentation. Technical Quarterly on the Master Brewers Association of the Americas, 23, 37-43. 1986.

SILVA, A.E.; COLPO, E.; OLIVEIRA, V.F.; HERBST JUNIOR, C.G.; HECKTHEUER, L.H.R.; REICHERT, F.S. Elaboração de cerveja com diferentes teores alcoólicos através de processo artesanal. **Alim. Nutr.** vol. 20. n.3. p. 369-374. 2009. Disponível em: <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/1129/832>>. Acesso em: 12 de julho de 2014.

SILVA, H. D.; BELLOTE, A. F. J.; FERREIRA, C. A.; BOGNOLA, I. A. Recomendação de solos para *Araucaria angustifolia* com base nas suas propriedades físicas e químicas. Bol. Pesq. Fl., Colombo, n. 43, p. 61-74, jul./dez. 2001.

SOARES, N. Tempo de mudança. **Engarrafador Moderno**, São Caetano do Sul, n. 205, p. 14-22, 2011. Disponível em: <http://www.engarrafadormoderno.com.br/edicoesEdicao_205.pdf>. Anho de 2014.

SUZUKI, Fábio. Butiques de cerveja roubam consumidores das grandes. *Brasil Econômico*, São Paulo, p. 36, 20 a 22/11/2010.

TASENDE, V.F. e OLIVERA, F.C. **Produção de biofilmes a base de amido de pinhão para utilização em alimentos**. Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS. Porto Alegre, 2013.

TSCHOPE, E.C. Microcevejarias e Cervejarias: A História, a Arte e a Tecnologia. 1a Ed. 223p. 2001.

TUBB, R.S.; SEARLE, B.A.; GOODEY, A.R.; BROWN, A.J.P. Rare mating and transformation for construction of novel brewing strains. **Proceedings of the 18th Congress of the European Brewery Convention**, Copenhagen, 487-496. 1981.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Dicas para o preparo de alimentos** (2007), disponível em <<http://www.segurancaalimentar.ufrgs.br>>. Acesso em 14 mar. 2012.

VAKERIA, D.; HINCHLIFFE, E. Amylolytic brewing yeasts: their commercial and legislative acceptability. **Proceedings of the 22nd Congress of the European Brewery Convention**, Zurich, 475-482. 1989.

VENTURINI FILHO, W.G.; CEREDA, M.P. Hidrolisado de fécula de mandioca como adjunto de malte na fabricação de cerveja: avaliação química e sensorial. **Ciência e Tecnologia Alimentos**. Vol. 18. N°2. Campinas. Maio/Julho 1998.

VENTURINI FILHO, WG; CEREDA, MP. Cerveja. In: ALMEIDA LIMA, U., AQUARONE, E., BORZANI, W., SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial** (Biotecnologia na produção de alimentos). São Paulo: Edgar Blucher, v.1. p. 91-144, 2001.

VIRKAJÄRVI, I. Feasibility of continuous mains fermentation of beer using immobilized yeast. Technical Research Centre of Finland. pag 12-17. 2001.

ZANDAVALLI, R.B., DILLENBURG, L.R.; SOUZA, P.V.D. (2004). Growth response of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) to inoculation with the mycorrhizal fungus *Glomus clarum*. **Applied Soil Ecology**, 24, 245–255.

ZSCHOERPER, O.P. **Apostila curso cervejeiro e malteador – AMBEV**. Porto Alegre: Ambev. 71p. 2009.