

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

RODRIGO PITANGA GUEDES

**Obtenção de uísque cortado a partir de destilados alcoólicos
simples de malte de cevada (*Hordeum vulgare*) e de quirera de
arroz preto IAC-600 (*Oryza sativa*)**

LORENA
2013

RODRIGO PITANGA GUEDES

Obtenção de uísque cortado a partir de destilados alcoólicos simples de malte de cevada (*Hordeum vulgare*) e de quirera de arroz preto IAC-600 (*Oryza sativa*)

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

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

Edição reimpressa e corrigida

LORENA
AGOSTO, 2013

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

Catálogo na Publicação

Biblioteca “Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite”

Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Guedes, Rodrigo Pitanga

Obtenção de uísque cortado a partir de destilados alcoólicos simples de malte de cevada (*Hordeum vulgare*) e de quirera de arroz preto IAC-600 (*Oryza sativa*) / Rodrigo Pitanga Guedes. – ed. reimpr., corr. – 2013.

142 p. : il.

Tese (Doutor em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2013.

Orientador: João Batista de Almeida e Silva

1. Uísque cortado 2. Quirera. 3. Arroz preto 4. Malte de cevada. 5. Enzimas exógenas. I. Título. II. Silva, João Batista de Almeida e, orient.

663.551 - CDU

A minha família pela presença sempre constante em minha vida, agradeço a amizade e o amor dedicados a mim.

O respeito ao próximo e a humildade foram sedimentados na educação que recebi.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me protege junto com os entes espirituais. Em diversos momentos, de alguma forma, me deram força para continuar com paciência, perseverança e coragem de enfrentar as dificuldades encontradas nesta caminhada. Muito obrigado.

Ao meu irmão e grande amigo Rafael, que me apoia incondicionalmente, ilumina minha vida pela simples existência, faz companhia mesmo quando não está presente, ensina a viver com suas atitudes e principalmente por me faz sentir o que é amor incondicional. Te amo e agradeço muito por tudo que fez e faz na minha vida. Muito obrigado.

Ao meu irmão Renato, que inspira o esforço com o seu exemplo de dedicação aos estudos e determinação para atingir seus objetivos. Saudades da convivência diária. Te amo. Muito obrigado.

Mais uma vez aos meus pais que sempre fizeram o seu melhor, que estiveram sempre presentes, me amaram cada um da sua forma, me apoiaram em tudo que fiz na vida e sempre torceram pelas minhas vitórias, estando ou não ao meu lado. Amo vocês. Muito obrigado.

A minha vó Esther, que esbanja amor, carinho e bom humor para todos. Ser humano invejável, que contagia a todos com seu exemplo de perseverança e força de vontade de viver. Que venham os aniversários para passar dos 100 anos de vida, se assim ela e Deus quiserem. Te amo. Muito obrigado.

A amizade, harmonia, colaboração e oportunidade de ter conhecido e convivido com o grupo de alunos de pós-graduação da cervejaria: o bem humorado gaúcho Diogo, a atenciosa e gentil Raquel e o companheiro Orerves que nunca vi reclamando, que já deixam saudades. Agradeço ao Orerves pela ajuda incondicional em momentos cruciais na execução deste trabalho. Muito obrigado.

A aluna de iniciação científica Natália Perez, sempre paciente, disposta, alegre, responsável, que realizava todas as atividades laboratoriais com o mesmo entusiasmo. Agradeço também a aluna Michelle Atanes. Muito obrigado.

A amizade e orientação da Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia, sempre disponível a prestar colaborações e apresentar sugestões em todos os momentos em que foi solicitada. Muito obrigado.

Ao professor Prof. Dr. João Batista de Almeida e Silva pela orientação, amizade e ajuda fornecida durante a execução deste trabalho. Muito obrigado.

Aos meus amigos Mário Antunes Alves da Cunha e Aline Siqueira Ferreira, pelos momentos de prosa, pela presença sempre marcante em minha vida, pela demonstração de amizade e carinho dedicados a mim e pela ajuda na realização deste trabalho. Tenho admiração por vocês. Muito obrigado.

Ao amigo Woton, professor do IFET-RP, que me apoiou em momentos difíceis e colaborou junto ao departamento e a instituição para o meu afastamento, possibilitando a dedicação total e exclusiva ao término do meu doutorado. Muito obrigado.

Ao querido amigo e professor de inglês Cláudio, que colaborou imensamente para a aprovação na prova de inglês deste Programa de Pós-Graduação. Muito obrigado.

As primas Nádia Mogyca e Virgínia Pelissari, e ao Caio Mogyca que contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigado.

Ao casal Rodrigo e Fátima Cortez que sempre me acolheram como um filho e estão sempre prontos para conversar, comemorar, compartilhar os bons e maus momentos. Muito obrigado.

Aos amigos e amigas que compreenderam a minha ausência durante a execução deste trabalho, me apoiaram e que colhem os frutos desta conquista. Em especial a Rachel Rocha Pinheiro e Josiane Domingues. Muito obrigado.

A amizade dos meus ex-alunos e ex-alunas, que estiveram presentes e interessados em saber como eu estava, apoiaram e incentivaram a chegada deste momento. Muito obrigado.

Aos amigos Cláudio Donato e Flávio Ferraz pela colaboração, conversas descompromissadas e pelos churrascos descontraídos. Muito obrigado.

Pela amizade e carinho da Bruna Caroline, que colaborou em momentos importantes deste trabalho. Muito obrigado.

A amizade dos alunos João Paulo, Priscila, Daniel Rivaldi, Daniel Torres, Daniela Cortez, Túlio Lima, Bárbara, Isabela, Bruno Guedes, Omar, Aline, Ivy, Wagner, e a todos que estiveram presentes. Muito obrigado.

A atenção dispensada pelos técnicos: Nicanor, Zé Moreira, Bárbara, Fabrício, Zé cobrinha, Cléber, Djalma, Paulinho, que sempre ajudaram incondicionalmente. Muito obrigado.

Aos guardas da EEL, pelas conversas e companhia em todos os momentos. Muito obrigado.

A amizade e presteza do André Silva, que teve paciência e sempre colaborou na resolução de problemas durante a realização do doutorado. Muito obrigado.

A ajuda irrestrita, com demonstração de carinho pelo que fazem, dos funcionários Isnaldi, Walkíria e Nadir, e também pela sua simpatia, presteza e auxílio em todos os momentos. Ao Maurício e Paulo do setor de transportes. Muito obrigado.

A todos os profissionais da oficina da Escola de Engenharia de Lorena, especialmente ao Marcolino, Ricardinho, Ordilei e Ivo, que compareceram diversas vezes na planta da escala piloto de 125L da Micro-cervejaria para reparos. Muito obrigado.

A atenção e amizade do Marco Ramos, que atendeu a todos os pedidos de reparação de problemas encontrados durante a execução deste trabalho. À presteza e educação do Silvinho. Muito obrigado.

A orientação e ajuda pela doação e/ou empréstimo de materiais imprescindíveis na execução deste trabalho pela Prof^a. Dr^a. Maria das Graças, Prof. Dr. Arnaldo Márcio, Prof.

Dr. Flávio Ferraz, Prof. Dr. Ismael, Prof^a. Dr^a. Eleonora, Prof. Dr. Walter, Prof. Dr^a. Bernardete, Prof. Dr. Carlos Shigue, Prof^a. Dr^a. Inês. Muito obrigado.

A colaboração da Prof^a. Dr^a. Marília Gaspar, da técnica Lúcia e Prof^a. Dr^a. Úrsula Lanfer, a Marileide e ao Raimundo do ITEP, que tornaram possível a realização de importantes análises deste trabalho. Muito obrigado.

Agradeço à gentileza da análise de água realizada pelo Departamento de Hidráulica e Saneamento da USP de São Carlos. Muito obrigado.

A Jéssica Rocha de Cantanhede pelo carinho, apoio e amizade dispensados. Muito obrigado.

Aos funcionários da biblioteca, Regina Horta, Bruno, Celma, Dora, pela atenção e presteza na ajuda prestada. Muito obrigado.

A Sandra Borges, Maria Aparecida e Ana Beatriz, que sempre estavam de bom humor e prontas para ajudar em todas as ocasiões. Muito obrigado.

Ao Lucas e Lauro, funcionários de P&D da *Pernod Ricard*, que por diversas vezes ajudaram na execução deste trabalho, além de participarem da análise descritiva quantitativa dos uísques. Muito obrigado.

As doações das empresas Arroz Preto Ruzene, Ambev, Malteria do Vale, *Pernod Ricard* e Prozyn. Muito obrigado.

Ao Departamento de Biotecnologia da EEL – USP, pela oportunidade de realização do doutorado. Muito obrigado.

A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, muito obrigado pelo tempo dedicado. Este trabalho foi apenas mais um, em relação a todos os outros em que já participei e onde a contribuição de todos os envolvidos foi de suma importância para que tudo transcorresse como deveria ter sido. Muito obrigado.

Cada um que passa em nossa vida,
passa sozinho,
pois cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra.
Cada um que passa em nossa vida
passa sozinho,
mas não vai só,
nem nos deixa sós.
Leva um pouco de nós mesmos,
deixa um pouco de si mesmo. Há os que levam muito;
mas não há os que não levam nada. Essa é a maior
responsabilidade em nossas vidas
e a prova que duas almas não se encontram ao acaso.

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

GUEDES, R. P. **Obtenção de uísque cortado a partir de destilados alcoólicos simples de malte de cevada (*Hordeum vulgare*) e de quirera de arroz preto IAC -600 (*Oryza sativa*)**. 2013. 142 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2013.

De acordo com a legislação brasileira o uísque cortado é produzido com a mistura de, no mínimo, 30% de destilado alcoólico simples de malte envelhecido, com destilados alcoólicos simples de cereais envelhecidos ou não, e neste trabalho foi utilizada a quirera de arroz preto IAC-600 para produzir uísque, pois tem alto valor nutricional, propriedades antioxidantes e baixo custo. A quirera de arroz preto IAC-600 foi inicialmente hidrolisada em escala de bancada de 500mL seguindo o planejamento fatorial 2^3 completo, com seis experimentos no ponto central, analisando os parâmetros tempo, adição da enzima ProteMax N600[®] ou Maltezyn W[®] e a concentração das enzimas Brautec alfa TF[®] e Maltezyn W[®]. De acordo com a análise estatística, a melhor condição obtida na região estudada foi com a utilização de 1000mg de Brautec alfa TF[®]/kg de amido em base seca e 750mg de Maltezyn W[®]/kg de quirera de arroz preto IAC-600 em base seca a 95°C por 30min, sendo adicionado posteriormente 500mg de Maltezyn W[®]/kg de quirera de arroz preto IAC-600 em base seca a 60°C até a hidrólise do amido resultar em teste de iodo negativo, sendo esta condição utilizada em escala de bancada de 15L e em escala piloto de 125L. Em todas as fermentações com quirera de arroz preto IAC-600 adicionou-se 10g da enzima Panzyn GA[®]/hL de meio fermentativo, após a inoculação com a levedura. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, pré-tratada ou não a 40°C/1h, foi utilizada na concentração de 0,4g peso seco/L de meio fermentativo. Em escala de bancada de 15 L os resultados de produtividade volumétrica em etanol, dos ensaios fermentativos com quirera de arroz preto IAC-600 e malte de cevada, com levedura pré-tratada ou não, não apresentaram diferença significativa. Portanto, nas fermentações das matérias-primas em escala piloto de 125L utilizou-se levedura sem pré-tratamento, e os fermentados obtidos foram destilados separadamente em alambique de 160L. O destilado alcoólico simples de malte de cevada que foi envelhecido aceleradamente por nove dias e o de quirera de arroz preto IAC-600 que não foi envelhecido foram misturados na proporção de 30% e 70%, e também 50% e 50%, respectivamente, resultando em dois uísques cortados a 40°GL com o teor de polifenóis de 141 e 229mg/L equivalente em ácido gálico, respectivamente. Estes dois uísques cortados foram analisados sensorialmente em relação a um uísque puro malte envelhecido 12 anos e um *bourbon*, encontrados no mercado mundial, por 125 provadores voluntários não treinados da EEL-USP. Considerando que o uísque cortado produzido com 50% de destilado alcoólico simples de malte de cevada envelhecido e 50% destilado alcoólico simples de quirera de arroz preto IAC-600 não envelhecido foi avaliado positivamente nos parâmetros cor e sabor quando comparado aos outros três uísques, e que não houve diferença significativa na aceitação global entre os quatro uísques avaliados, este uísque cortado possui potencial mercadológico como um produto novo, apresentando sabor diferenciado em relação aos dois uísques comerciais. Por outro lado, a análise descritiva quantitativa realizada por dez provadores treinados da *Pernod Ricard*, nos dois uísques produzidos neste trabalho, demonstrou que o processo de envelhecimento acelerado não forneceu os atributos aromáticos desejados, sendo necessário o aperfeiçoamento ou a substituição desta metodologia.

Palavras-chave: Uísque cortado. Quirera. Arroz preto. Malte de cevada. Enzimas exógenas.

ABSTRACT

GUEDES, R. P. **Getting blended whiskey from single distilled alcoholic of barley malt (*Hordeum vulgare*) and broken IAC-600 Black Rice (*Oryza sativa*)**. 2013. 142 p. Thesis (Doctoral in Science) – Engineering School of Lorena, University of São Paulo, 2013.

According to Brazilian law, the blended whiskey is produced by mixing at least 30% of aged single malt distilled alcohol with aged or not single alcoholic distillates from cereal, and this study used broken IAC-600 black rice to produce whiskey, due to its high nutritional value, antioxidant properties and low cost. The broken IAC-600 black rice was initially hydrolyzed at bench scale (500mL) following the 2^3 full factorial design with six assays at central point, analyzing the parameters time, addition of ProteMax N600[®] or Maltezyzn W[®] enzymes and the concentration of the Brautec alfa TF[®] and Maltezyzn W[®] enzymes. According to statistical analysis, the best condition obtained at the studied region was with 1000mg Brautec alfa TF[®]/kg starch (dry basis) and 750mg Maltezyzn W[®]/kg of broken IAC-600 black rice (dry basis) at 95°C for 30min. Subsequently, 500mg Maltezyzn W[®]/kg of broken IAC-600 black rice was added at 60°C until starch hydrolysis results in negative iodine test, and this condition was used at bench scale (15L) and at pilot scale (125L). In all the fermentations with broken IAC-600 black rice 10g Panzyn GA[®]/hL of fermentative medium was added after the inoculation with the yeast. The *Saccharomyces cerevisiae* yeast, pretreated or not at 40°C/1h, was used at 0.4g dry weight/L of fermentative medium. At bench scale (15L), the results of ethanol volumetric productivity in the fermentation assays with broken IAC-600 black rice and barley malt with yeast, pretreated or not, showed no significant difference. Therefore, in the raw materials fermentations at pilot-scale (125L), the yeast without pretreatment was used, and the obtained washes were separately distilled into 160L still. The single alcoholic distillate of barley malt that was rapidly aged for nine days and the broken IAC-600 black rice that was not aged were mixed at ratios of 30% and 70% and also 50% and 50%, respectively, obtaining two blended whiskeys at 40°GL with 141 and 229mg/L polyphenol contents equivalent to gallic acid, respectively. These two blended whiskeys were sensory analyzed in relation to a 12 year-old pure malt whiskey and to a bourbon found in the world market, by 125 volunteers untrained tasters of EEL-USP. Considering that the blended whiskey produced with 50% of aged single alcoholic distillate of barley malt and 50% of not aged single alcoholic distillate of broken IAC-600 black rice was positively evaluated in color and taste parameters when compared to the other three whiskeys, and that there was no significant difference in acceptability among the four whiskeys evaluated, this blended whiskey has marketing potential as a new product, presenting distinctive taste compared to the two commercial whiskeys. In the other hand, the quantitative descriptive analysis made by ten trained tasters of *Pernod Ricard* about the two whiskeys produced in this work showed that the process of rapid aging did not provide the desired aromatic attributes, requiring the improvement or substitution of this methodology.

Keywords: Blended whiskey. Broken Black rice. Barley. Exogenous enzymes.