UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ CÂMPUS FRANCISCO BELTRÃO CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

ARTUR DE SOUZA FERREIRA CLEITON LUIS BENKA

PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL A PARTIR DE MALTE GERMINADO PELO MÉTODO CONVENCIONAL E TEMPO REDUZIDO DE GERMINAÇÃO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ARTUR DE SOUZA FERREIRA CLEITON LUIS BENKA

PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL A PARTIR DE MALTE GERMINADO PELO MÉTODO CONVENCIONAL E TEMPO REDUZIDO DE GERMINAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de "Tecnólogo em Alimentos" no curso de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR Câmpus Francisco Beltrão.

Orientadora: Prof^a Dr^a Elisabete Hiromi Hashimoto Co-orientador: Prof. Dr. Luciano Lucchetta

FOLHA DE APROVAÇÃO

PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL A PARTIR DE MALTE GERMINADO PELO MÉTODO CONVENCIONAL E TEMPO REDUZIDO DE GERMINAÇÃO

Por

ARTUR DE SOUZA FERREIRA E CLEITON LUIS BENKA

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BANCA AVALIADORA

Prof. MSc. Maycow Gonçalves Carneiro Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof. Dr. Luciano Lucchetta Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof^a Dr^a Elisabete Hiromi Hashimoto Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR (Orientadora)

Prof^a Dr^a Cleusa Ines Weber Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR (Coordenadora do curso)

Francisco Beltrão, 05 de dezembro de 2014.

[&]quot;A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso."

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer aos nossos orientadores Profa Elisabete Hashimoto e Prof. Luciano Lucchetta, pois sem seus auxílios e orientações este projeto não seria possível; ao Prof. Maycow Carneiro que, junto com nossos orientadores, teve disponibilidade e sugestões fundamentais em nossa banca; a Profa Ellen Porto Pinto, pelo companheirismo e por sempre estar presente quando necessitamos; a Profa Vânia Fonseca, pela constante ajuda nas metodologias escolhidas; a Crislane Brazil e Rafael Duarte (PUB Formosa) pelas contribuições mais que necessárias na produção de nossas cervejas; ao grupo PET-Alimentos pela parceria; aos colegas João Paulo Fernando Mileski, Caroline Giani de Carli, Michel Kanemaru, Josemarque da Rosa e Gabrielly Tonial, pelo auxílio fornecido neste projeto; aos demais colegas e comunidade acadêmica da UTFPR que de alguma forma contribuíram nesta jornada; e a disponibilidade e estrutura do Câmpus UTFPR Francisco Beltrão, tornando possível a realização deste projeto.

Artur agradece também: a Luana Camila Carara, Samara Fontana e Camila Sartori Pavan, por me proporcionarem muitos dos melhores momentos da minha vida (até agora); a Douglas Stanguerlin, por sempre estar do meu lado independente da situação; a Marceline, por ser o maior orgulho de toda esta jornada; a Thiago Henrique Caldas, Camila Coelho e Michel Costa, por ajudarem a moldar a pessoa que vos escreve; e a Eloisa Monteiro, onde não existem palavras para descrever o quão precioso e fundamental foi o apoio incondicional recebido.

Cleiton gostaria de agradecer: a Deus, a quem devo minha vida; a minha família, que sempre me apoiou nos estudos e nas escolhas tomadas; a minha namorada, por sempre me incentivar e compreender nos momentos difíceis; e aos meus colegas pelo companheirismo e disponibilidade para me auxiliar em vários momentos.



RESUMO

Na fabricação de cerveja destaca-se entre os ingredientes o malte, proveniente de cevada germinada. Durante o processo de germinação da cevada a ação da enzima β-glucanase promove a redução do teor de β-glucanas. A germinação incompleta pode acarretar em um excesso de β-glucanas, resultando em problemas indesejáveis nas propriedades coloidais da cerveja, como turvação e aumento de viscosidade. Com o objetivo de otimizar a produção de malte para cervejas, propõese neste estudo a redução do tempo de germinação da cevada de 96 para 64 h, juntamente com a aplicação de enzima β-glucanase em concentrações de 0, 25, 50 e 100 mg.kg⁻¹. Para comparar a aplicabilidade do malte produzido, foram elaboradas cervejas artesanais com características que diferem entre o tempo de germinação e a adição ou não de enzima β-glucanase, e avaliadas suas características físicoquímicas, microbiológicas e sensoriais. A turbidez esperada para as formulações com menor concentração de enzima não foi percebida na determinação deste parâmetro físico-químico, por uma provável suspensão de sólidos na amostra pela ausência de processos de clarificação na elaboração de cervejas artesanais. A partir do perfil sensorial das amostras, realizado após análise de variância de médias para p ≤ 0,05, constatam-se semelhanças entre as cervejas com tempo normal de germinação (96 h) e a formulação com tempo reduzido de germinação (64 h) mais adição de 50 mg.kg⁻¹ de enzima, viabilizando a produção de malte germinado com um menor período de tempo, sem alterar a qualidade do produto final.

Palavras-chave: Cevada; Enzima; Malteação; Fermentação; β-glucanase.

ABSTRACT

In brewing stands out among the ingredients malt, from germinated barley. During the germination process of barley, the action of the enzyme β-glucanase promotes the reduction of β-glucans content. Incomplete germination can result in an excess of β-glucans, resulting in undesirable problems in colloidal properties of beer, such as turbidity and viscosity increase. In order to optimize the production of malt beer, it is proposed in this study reducing the germination of barley time from 96 to 64 h with application of the enzyme β-glucanase at concentrations of 0, 25, 50 and 100 mg.kg⁻¹ ¹. To compare the applicability of the produced malt, handmade beers were prepared with characteristics that differ between the time of germination and the addition or β-glucanase enzyme, and evaluated their physical-chemical, microbiological and sensory characteristics. The expected turbidity for formulations with lower concentrations of enzyme was not seen in determining this physicalchemical parameter, for a probable suspension of solids in the sample by the absence of clarification processes in the development of handmade beers. From the sensory profile of the samples, performed after statistical analysis of mean variance for p \leq 0.05, we observe similarities between beers with normal germination time (96) h) and formulation with reduced germination time (64 h) plus addition of 50 mg.kg⁻¹ enzyme, allowing the germinated malt production with a smaller period of time, without changing the quality of the final product.

Keywords: Barley; Enzyme; Malting; Fermentation; β-glucanase.

LISTA DE TABELAS

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	.11
2.1 Objetivo geral	.11
2.2 Objetivos específicos	.11
3 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 Características gerais da cerveja	.12
3.2 Malte	
3.2.1 Cevada	.14
3.3 Lúpulo	. 17
3.4 Levedura	
3.5 Água	. 18
3.6 Enzimas	
3.7 Processamento da cerveja	20
4 METODOLOGIAS	
4.1 Material	
4.2 Elaboração da cerveja artesanal	
4.3 Análises físico-químicas	
4.3.1 Extrato seco total	
4.3.2 Acidez total	25
4.3.3 Açúcares redutores em glicose	25
4.3.4 Teor alcoólico	
4.3.5 Densidade	26
4.3.6 Turbidez	26
4.3.7 pH	
4.3.8 Sólidos solúveis	
4.3.9 Cor	26
4.4 Análises microbiológicas	. 27
4.4.1 Contagem de Staphylococcus aureus	
4.4.2 Contagem de mesófilos a 30 °C	28
4.4.3 Contagem de coliformes totais e termotolerantes	28
4.4.4 Contagem de bolores e leveduras	
4.5 Análise sensorial	
4.6 Análise estatística	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Análises físico-químicas	31
5.2 Análises microbiológicas	
5.3 Análise sensorial	
6 CONCLUSÃO	39
DEFEDÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A produção e o consumo de bebidas alcoólicas é uma das atividades mais antigas da humanidade. Sendo a cerveja, originada do latim *bibere*, que significa beber, uma bebida produzida a mais de 6000 anos (DRAGONE; SILVA, 2010). Sua produção representa uma importante atividade na geração de economia para diversos países (VARNAM; SUTHERLAND, 1997).

O Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), define cerveja 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" (BRASIL, 1997).

Dentre os ingredientes para a fabricação da cerveja destaca-se a cevada malteada, que serve como fonte de carboidratos, proteínas, minerais, etc. O lúpulo que é responsável pelo amargor da cerveja (sabor característico) e água de boa qualidade. Em países como a Alemanha, a cerveja somente pode ser produzida com cevada, lúpulo, levedura e água Já em outros países pode-se adicionar adjuntos (fonte de carboidratos) que podem fazer a substituição de parte da cevada malteada, caramelo com corante, etc. (DRAGONE; SILVA, 2010).

Para avaliar e classificar as cervejas produzidas no Brasil, o MAPA estabeleceu legislação específica, a lei nº 8918 de 1994, conhecida como Lei de Bebidas, que regulamenta as especificações necessárias para sua produção, desde matérias-primas até a composição final da cerveja, e ainda a classifica quanto ao tipo de fabricação, cor, teor alcoólico, padrões de rotulagem, análises de controle, e outras variedades. A IN 54 de 2001 do MAPA, define ainda, os padrões de identidade e qualidade dos produtos de cervejaria destinados ao consumo humano.

Com o objetivo de otimizar a produção de malte cervejeiro, uma cooperativa do Paraná propõe a redução do tempo de germinação da cevada de 96 para 64 h e a aplicação a enzima β-glucanase no malte produzido com tempo de germinação reduzido. Esta alteração do processo de malteação pode trazer economia no processo, reduzindo o tempo do processo de malteação. No entanto, os possíveis impactos no produto final não foram avaliados. Desta forma, este trabalho tem como objetivo avaliar possíveis diferenças na qualidade físico-química e sensorial entre cerveja artesanal produzida com tempo de malteação convencional (96 h), reduzido

(64 h) e tempo reduzido com diferentes concentrações da enzima β -glucanase aplicada.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Elaborar cervejas artesanais produzidas a partir de malte processado com tempo de germinação convencional (96 horas), tempo reduzido (64 horas), e tempo reduzido adicionado de diferentes concentrações de enzima β-glucanase.

2.2 Objetivos específicos

- Produzir cervejas artesanais com malte produzido pelo método convencional, com tempo reduzido e com tempo reduzido e diferentes concentrações de enzima β-glucanase aplicada;
- Avaliar as características físico-químicas das cervejas produzidas;
- Realizar análise microbiológica das cervejas produzidas; e
- Comparar a qualidade sensorial das cervejas artesanais.

3 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

3.1 Características gerais da cerveja

O Brasil já está entre os três maiores produtores de cerveja do mundo, produzindo cerca de 13 milhões de L/ano. Em relação ao consumo, o brasileiro consome em média 57 L/ano, ocupando o 4º lugar em consumo, atrás apenas dos EUA, China e Alemanha (EMBRAPA, 2014).

Para se produzir uma cerveja de qualidade são necessários muitos cuidados que vão desde condições de higiene adequadas até a escolha correta dos ingredientes, que devem ser de boa procedência e de alta qualidade. A qualidade do produto final é influenciada pela qualidade da matéria prima, mas também pode ser influenciada por variáveis que podem ser o tipo de malteação, o método de preparação do mosto, tipo de lúpulo, tipo e qualidade das leveduras, tempo de fermentação, maturação, utilização ou não de pasteurização e filtração, dentre outras (PASTORE et al., 2013).

A água, que representa cerca de 92 a 95 % do peso total da cerveja, deve ser de boa qualidade. Entre os demais ingredientes que compõem a cerveja, inclui-se o malte, que tem por objetivo a solubilização do amido e desenvolvimento enzimático; a levedura, responsável pelo processo fermentativo; e o lúpulo que tem em sua composição óleos essenciais, os quais conferem aroma ao produto e alguns adjuntos, ou seja, as fontes de carboidratos (PASTORE et al., 2013).

Algumas alterações podem ocorrer no produto, sendo de origens microbiológicas e/ou químicas. Dentre as alterações microbiológicas pode-se citar o aumento da viscosidade, excesso de gás e acidez, desenvolvimento de odor e sabor não característico, dentre outras. Sobre as alterações químicas a mais comum é a formação de turbidez, mas também pode ocorrer a formação de sabores estranhos devido a escolha de matéria-prima de má qualidade, armazenamento inadequado, etc. (PASTORE et al., 2013).

Segundo a legislação brasileira em sua Instrução Normativa 54, de 5 de novembro de 2001 do MAPA (BRASIL, 2001), a cerveja pode ser classificada como mostra o quadro 1 a seguir.

Quadro 1 – Parâmetros e características das cervejas

Parâmetro	Característica			
Quanto ao extrato primitiv	0			
Cerveja leve	Extrato primitivo maior ou igual a 5 % e menor que 10,5 %			
Cerveja comum	Extrato primitivo maior ou igual a 10,5 % e menor que 12,5 %			
Cerveja extra	Extrato primitivo maior ou igual a 12 % e menor ou igual a 14 %			
Cerveja extra forte	Extrato primitivo maior que 14 %			
Quanto a cor				
Cerveja clara	> 20 unidades EBC			
Cerveja escura	< 20 unidades EBC			
Quanto ao teor alcoólico				
Cerveja sem álcool	< 0,5 % de álcool, não sendo obrigatório declarar no rótulo o			
	teor alcoólico			
Cerveja com álcool	≥ 0,5 % de álcool, sendo obrigatório declarar no rótulo o teor alcoólico			
Quanto a proporção de ma	alte de cevada			
Cerveja puro malte	100 % de malte de cevada como fonte de açúcar			
Cerveja	≥ 50 % de malte de cevada como fonte de açúcar			
Cerveja com nome do	•			
vegetal predominante	> 20 e < 50 % de malte de cevada como fonte de açúcar			
Quanto a fermentação				
Baixa fermentação	Processo de fermentação que utiliza leveduras ativas a			
	temperaturas baixas (9 a 15 °C) com fermentação mais lenta			
	e maior produção de aromas			
Alta fermentação	Processo de fermentação que utiliza leveduras ativas a			
	temperaturas mais elevadas (15 a 25 °C) com aromas típicos			
	frutados e, por vezes, condimentados			

Fonte: BRASIL, 2001.

O quadro 1 mostra os parâmetros e as características das cervejas quanto ao extrato primitivo, teor alcoólico, quanto a proporção de malte e cevada e quanto à fermentação. As cervejas também não devem apresentar substâncias que possam causas danos à saúde dos seres humanos, bem como deve ser isenta de microrganismos patogênicos (LIMA; FILHO, 2011).

3.2 Malte

Para o processo de fabricação de cervejas, o malte é obtido da cevada, onde logo após a colheita é armazenado em silos sob condições favoráveis de temperatura e umidade para posterior envio para a indústria de transformação. Para que os grãos de cevada se transformem em malte é preciso que os mesmos sejam colocados sob condições favoráveis de germinação, controlando temperatura, aeração e umidade, sem esquecer que se deve interromper o processo de germinação, caso contrário poderá haver a formação de uma nova planta (DRAGONE; SILVA, 2010).

O processo de malteação está diretamente ligado à qualidade da cerveja, afetando as características sensoriais desta (DRAGONE; SILVA, 2010). O Processo de germinação controlada da cevada envolve a umidificação, a germinação em si e a secagem, e cujos propósitos são: amolecer os grãos para facilitar a moagem; desenvolver as enzimas responsáveis pela quebra do amido durante a brassagem; e introduzir cor e aromas desejáveis à cerveja (LIMA; FILHO, 2011).

Segundo Embrapa (2012), cerca de 75 % da cevada que é produzida no Brasil é destinada para fabricação do malte, sendo que 95 % deste malte é destinado para fins cervejeiros. Existem no país três maltarias que com sua produção conseguem suprir aproximadamente 38,2 % da demanda nacional de malte, sendo as maltarias: Agromalte-Agrária (Guarapuava-PR), IMBEV (Porto Alegre-RS) e Maltaria do Vale (Taubaté-SP).

3.2.1 Cevada

A cevada é o cereal mais utilizado na indústria cervejeira devido a sua alta capacidade de maltagem, além de possuir um alto teor de amido, baixo teor de lipídios, contém enzimas que auxiliam na produção do mosto, contém também proteínas que auxiliam na formação de espuma e equilíbrio coloidal do produto, além de ser mais barata e mais fácil de maltear do que cereais como trigo, arroz, milho e aveia (LIMA; FILHO, 2011).

Estima-se que a produção mundial de cevada atinja 145,24 milhões de toneladas na safra 2013/2014, e entre os maiores produtores destacam-se a União Européia, Rússia e Canadá (EMBRAPA, 2014).

A tabela 1 aponta os três maiores Estados produtores de cevada do Brasil, em relação à área colhida, produção e rendimento do produto, no período de 2011 a 2014. Destaca-se o Paraná, com produção de 181,7 mil toneladas na safra 2013/2014 e uma área colhida de 43,7 mil hectares.

Tabela 1 – Área, produção e rendimento de cevada na região sul do Brasil

Estado	Área colhida (ha)		Produção (t)		Rendimento (kg/ha)		
	2013	2014	2013	2014	2013	2014	
PR	43.612	45.700	131.269	185.072	4.156	4.050	
SC	2.120	2.100	6.696	6.073	3.158	2.892	
RS	39.637	39.673	129.530	99.568	3.268	2.512	

Fonte: LIMA; FILHO, 2011.

A tabela 2 mostra os municípios do Brasil que obtiveram a maior área plantada, quantidade de produção e rendimento de cevada na safra de 2012, mostrando que o município com maior área de produção é o município de Guarapuava-PR, com uma área colhida de 14.500 ha, quantidade produzida de 49.155 toneladas e um rendimento de 3.390 kg/ha.

Tabela 2 – Relação de seis municípios que apresentam maior área colhida, quantidade produzida e rendimento de cevada na safra 2012 no Brasil

Área colhida		Quantidade prod	Quantidade produzida		
Município	ha	Município	t	Município	kg/ha
Guarapuava		Guarapuava		Guarapuava	
(PR)	14.500	(PR)	49.155	(PR)	3.390
Candói (PR)	6.400	Candói (PR)	24.640	Candói (PR)	3.850
Pinhão (PR)	5.800	Pinhão (PR)	18.850	Pinhão (PR)	3.250
Mangueirinha		Reserva do Iguaç	cu	Reserva do Igua	çu
(PR)	4.460	(PR)	12.180	(PR)	3.900
Reserva do Igu	ıaçu	Mangueirinha		Mangueirinha	
(PR)	4.200	(PR)	10.000	(PR)	2.242
Julio de Castilh	no	Palmeira (PR)	8.500	Palmeira (PR)	3.400
(PR)	3.000				

Fonte: EMBRAPA, 2014.

O processamento da cevada deve obedecer algumas etapas que devem ser realizadas de maneira correta para que o produto final (cerveja) saia da melhor qualidade possível. Dentre as etapas pode-se ressaltar a maceração, germinação e secagem.

No processo de maceração, a cevada é molhada com o objetivo de reter umidade até que os grãos deste cereal alcancem um teor de umidade entre 35 a 45

%, além de lixiviar e limpar os grãos de substâncias indesejadas (TSCHOPE, 1999). Faz-se ainda necessário o processo de umidificação da cevada para que possa ocorrer a germinação dos grãos (ZSCHOERPER, 2009).

A germinação nada mais é que a transformação da semente em uma nova planta, sendo que, para que este processo ocorra, é necessária a elevação da porcentagem de umidade nos grãos de cevada, além de ser necessário o fornecimento de oxigênio e calor suficientes. As indústrias cervejeiras vêm utilizando este processo com o intuito de aproveitar as transformações naturais ocorridas durante este processo em favor da tecnologia (TSCHOPE, 1999).

Um dos principais objetivos da germinação é a produção de enzimas, utilizadas na produção de cervejas (KUNZE, 1999) sendo que se faz necessário o controle de umidade dos grãos, devido que os mesmo perdem umidade para o ar durante o processo. Aproximadamente 0,5 % de umidade é perdida por dia, e geralmente este controle é realizado por aspersão de água. Além do controle de umidade é de extrema importância o controle da temperatura do processo, que deve ficar entre 16 e 20 °C. Sob temperaturas mais elevadas o processo se dá mais rapidamente, sob temperaturas mais baixas ocorre uma maior produção de enzimas. Devido a este fato, a indústria cervejeira começa o processo de germinação sob temperaturas mais baixas, aumentando a temperatura ao término do processo, o que possibilita a produção de uma quantidade de enzimas suficiente para a fabricação de cerveja (BAMFORTH, 2001).

Durante o processo de germinação ocorrem muitas transformações, dentre elas, as enzimáticas que ocorrem pela ação de hormônios (constituídos de ácido giberélico) que são distribuídos pela água que penetra nos grãos (KUNZE, 1999).

A β-glucanase é a primeira enzima a ser produzida, seguida da α-amilase e das proteases. A α-amilase é muito importante para o processo de fabricação de cervejas, pois degrada o amido na mosturação (KUNZE, 1999). A formação de enzimas depende do tipo e da variedade da cevada utilizada, do teor de umidade, tamanho dos grãos, temperatura, entre outros (TSCHOPE, 1999).

A secagem, por fim, é um processo que consiste na passagem de ar quente sob os grãos de cevada até que os mesmos fiquem secos, possibilitando o armazenamento e estabilidade dos grãos (BRIGGS, 1995). Cerca de 90 % de toda energia requerida no processo de malteação é utilizada nesta etapa (GIBSON, 2001). A secagem pode ser dividida em quatro etapas, a primeira com temperaturas

mais baixas entre (50 e 60 °C) para se reduzir a umidade dos grãos verdes para aproximadamente 23 %; a segunda etapa objetiva reduzir a umidade para 12 % reduzindo-se o fluxo de ar, mas aumentando a temperatura do mesmo; a terceira visa diminuir a umidade de 12 para 6 %, onde a umidade relativa cai muito; e na quarta etapa aumenta-se a temperatura do ar para 80 - 110 °C dependendo do malte utilizado (BAMFORTH, 2001).

Durante a secagem pode ocorrer a desnaturação enzimática devido à exposição dos grãos a altas temperaturas, causando a diminuição da quantidade de enzimas no malte. Por exemplo, a β-glucanase e a β-amilase são inativadas quando os grãos são submetidos a temperaturas de 80 °C, já as α-amilases são inativadas em temperaturas superiores a 90°C. Geralmente o que se faz na indústria cervejeira é secar os grãos sob temperaturas mais baixas sob fluxo de ar mais elevados, o que pode reduzir a perda enzimática (BRIGGS, 1995).

3.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.), que geralmente é adicionado ao final do processo de mosturação, é responsável por proporcionar o sabor amargo da cerveja (HUGHES; SIMPSON, 1993; SANDRA, 1976). Na indústria cervejeira usa-se uma quantidade pequena de lúpulo, geralmente de 40 a 300 g de lúpulo para cada 100 litros de cerveja produzida (LIMA; FILHO, 2011).

O lúpulo possui óleos essenciais que apresentam mais de 200 compostos, os quais propiciam sabores variados à cerveja (SHARP; LAWS, 1981).

Estes óleos essenciais são altamente voláteis, sendo que cerca de 96 % dos mesmos são perdidos ao decorrer do processo de fabricação da cerveja (DRAGONE; SILVA, 2010).

3.4 Levedura

O sabor e aroma de qualquer tipo de cerveja estão diretamente ligados a levedura escolhida para se fabricar a bebida. O que determina o sabor específico de cada cerveja são os produtos de excreção do processo fermentativo, sendo que este sabor geralmente depende do balanço metabólico global do cultivo de levedura escolhida, que pode ser afetada pelo pH da fermentação, pelo tipo de cepa da

levedura, temperatura, tipo e concentração do mosto, etc. (DRAGONE; SILVA, 2010).

As leveduras, porém, podem ocasionar a turvação da cerveja, pois participam do processo fermentativo, como é o caso da *Sacharomyces pasterianus*. Mas além da turvação, outras alterações podem ocorrer na cerveja, tais como alterações referentes ao odor, onde a cerveja pode apresentar cheiro de mel, que geralmente é ocasionado por espécies dos gêneros *Acetobacter, Lactobacillus* e *Pediococcus*, e odores estranhos e cheiro de frutas, podendo ser ocasionado por contaminação de leveduras. Podem ainda ocorrer alterações nas cervejas referentes ao sabor, quase sempre provocadas pela acidificação da bebida, onde pode ocorrer a oxidação do etanol transformando-se em ácido acético, geralmente pela ação de algumas bactérias (*Acetobacter*), além de gostos estranhos que geralmente as leveduras são responsáveis (EVANGELISTA, 1987).

3.5 Água

A água para a produção de cerveja deve ser de extrema qualidade, sendo que o gasto da mesma em uma indústria cervejeira pode ser de 4 a 10 vezes em relação ao volume de cerveja produzida (LIMA; FILHO, 2011).

Cerca de 92 a 95 % do peso da cerveja é constituído de água. Para se obter uma cerveja de boa qualidade alguns requisitos devem ser seguidos, dentre eles seguir padrões de potabilidade, a água deve apresentar alcalinidade preferencialmente inferior a 25 mg/L e possuir concentração de cálcio aproximada de 50 mg/L (DRAGONE; SILVA, 2010).

Antes da utilização da água em uma indústria cervejeira, a mesma deve passar sob uma série de análises, dentre elas pode-se citar: análise de pH, dureza, turbidez, dentre outras, não importando a fonte que se obteve esse recurso hídrico (BRIGIDO; NETTO, 2006).

É muito importante que se tenha um controle sobre o pH da água utilizada para a fabricação da bebida, sendo que o pH ideal para a fabricação varia dependendo do tipo de cerveja. O pH mais indicado gira em torno de 6,5 a 7,0 (BRIGIDO; NETTO, 2006).

3.6 Enzimas

Na indústria alimentícia as enzimas contribuem muito para a obtenção de novos produtos, devendo-se levar em conta uma boa seleção e controle de atividade das mesmas, possibilitando um controle de sua inativação quando não se alcança os objetivos desejados e possibilitando sua ação quando útil ao produto requerido (EVANGELISTA, 1987).

Nos processos atuais de fabricação de cerveja, faz-se inicialmente a germinação da cevada para que a mesma possa se transformar em malte. Neste processo, serão produzidas algumas enzimas devido à indução do metabolismo, formando enzimas como as α-amilases e as β-glucanases (BELETI et al., 2012), e ainda peptidases, que são responsáveis por atuar nas proteínas e polissacarídeos que ajudarão com um padrão de açúcar e aminoácidos no processo fermentativo. Um dos eventos iniciais nesta germinação é a degradação pelas β-glucanases das paredes celulares do endosperma amiláceo. Estas hidrolisam os glucanos em suas ligações glicosídicas e liberam glicose (BAUERMEISTER et al., 2010). Os glucanos estão presentes entre os principais polímeros que compõem a parede celular do endosperma da cevada (BELETI et al., 2012).

As β -glucanas também são produzidas por fungos leveduriformes, mas ainda podem ser produzidas por bactérias, apresentando ligações tanto β quanto α , com predominância de β . Nos fungos, sua síntese ocorre em três etapas, de iniciação, de alongamento da cadeia e de ramificação, visto assim que sua principal função é auxiliar a rigidez da parede celular dos fungos e de leveduras (BAUERMEISTER et al., 2010).

Devido a esta composição, alguns problemas indesejáveis podem ocorrer na cerveja, por exemplo, as β-glucanas de alto peso molecular podem causar problemas nas propriedades coloidais da cerveja, outros problemas como turvação podem ser ocasionados por proteínas não hidrolisadas (FUJITA; FIGUEROA, 2003). β-glucanas residuais podem ainda acelerar um aumento da viscosidade do mosto e da cerveja, causando problemas de filtração do produto em processos industriais (BELETI et al., 2012).

A redução do tempo de germinação pode resultar em um malte com concentrações elevadas de β -glucanas, devido ao tempo insuficiente para ação das β -glucanases presentes na cevada. Uma das alternativas é a adição da enzima β -

glucanase no malte, reduzindo o teor de β-glucanas para valores aceitáveis pela indústria cervejeira (BRAZIL, 2014).

3.7 Processamento da cerveja

A moagem tem por finalidade reduzir o tamanho dos grãos para facilitar o rompimento da casca e uma melhor extração do endosperma, além de evitar a formação excessiva de farinha com granulometria fina o que poderia ocasionar a formação de uma pasta dentro da solução. Esta etapa tem grande influência nas transformações físico-químicas, no rendimento e na qualidade do produto final, devendo ser feita de maneira adequada (DRAGONE; SILVA, 2010).

O tipo de mosturação depende do tipo e da composição da cerveja que se deseja obter, agregando conhecimentos da quantidade de componentes que se deseja obter no corpo da cerveja, como por exemplo, a quantidade desejada de açúcares, substâncias proteicas, consistência da espuma, dentre outras (DRAGONE; SILVA, 2010).

A fermentação é uma das principais etapas da fabricação de qualquer bebida alcoólica, tendo por objetivo principal a conversão de açúcar em etanol pela ação de leveduras (DRAGONE; SILVA, 2010). A fermentação da cerveja é uma fermentação alcoólica, onde os micro-organismos responsáveis por esta etapa são os do gênero Saccharomyces, sendo a principal espécie Saccharomyces cerevisae (EVANGELISTA, 2005).

Muitos aspectos devem ser levados em conta na elaboração de uma cerveja de boa qualidade, dentre estes aspectos pode-se citar: o tipo de cepa a ser utilizada, o tipo de fermentação (se alta ou baixa), tempo de fermentação e como determinar seu término, dentre outras (BRIGIDO; NETTO, 2006).

Na indústria cervejeira o processo de fermentação se dá pela transformação da levedura (fermento) em etanol e gás carbônico, isso sob condições anaeróbicas (BRIGIDO; NETTO, 2006).

Após realizado este processo o produto deve ser maturado, finalizando o processo fermentativo, além de melhorar as características da qualidade da cerveja como sua carbonatação e formação de ésteres responsáveis pelo aroma e sabor.

4 METODOLOGIAS

4.1 Material

Foram elaboradas quatro formulações de cervejas artesanais, codificadas conforme a tabela 3, que diferiam nas amostras de malte que foram processados com tempo de germinação diferentes e com concentrações diferentes da enzima β-glucanase após a malteação. A aplicação da concentração de enzima é objeto de estudo de uma cooperativa localizada na região de Guarapuava – PR, conforme demonstrado na tabela 4.

Tabela 3 - Codificação aplicada às cervejas artesanais produzidas

Codificação	Tempo de germinação	Concentração de enzima aplicada
C96-00	96 horas	0 mg.kg ⁻¹
C64-00	64 horas	0 mg.kg ⁻¹
C64-25	64 horas	25 mg.kg ⁻¹
C64-50	64 horas	50 mg.kg ⁻¹

Tabela 4 – Teor de β-glucanas nos maltes produzidos a partir da cultivar BRS-Cauê em tempos de germinação de 96 e 64 horas com e sem adição de β-glucanase

Amostra	β-glucanas (mg/L)	
C96-00	90,67 ^a	
C64-00	320,00 ^d	
C64-100	74,67 ^a	
C64 50	116,33 ^b	
C64-25	172,67 ^c	

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p \le 0.05$).

Fonte: Brazil, 2014.

As amostras de malte utilizadas para o processamento da cerveja foram selecionadas, baseadas principalmente no teor de β-glucanas final. Os maltes com adição de enzima utilizados para as cervejas artesanais foram os que obtiveram uma redução de β-glucanas pela β-glucanase ideal ao parâmetro aplicado pela indústria cervejeira, 178 mg/L (BRAZIL, 2014). Assim, conclui-se que os maltes com concentrações de 50 e 25 mg.kg⁻¹, apesar de diferirem estatisticamente do malte oriundo do processo tradicional (96 h), estão apropriados para a produção de cerveja. O malte com adição de 50 mg.kg⁻¹ obteve ainda um teor de β-glucanas muito próximo ao teor encontrado no malte com tempo de germinação de 96 h, quando comparado ao malte com 25 mg.kg⁻¹ ou, ainda, o malte sem adição de enzima (BRAZIL, 2014). Não foi processada a cerveja com malte C64-100 devido a falta de amostras para tal.

4.2 Elaboração da cerveja artesanal

As cervejas artesanais foram processadas no período de setembro a novembro de 2014, com uma diferença de 3 semanas entre a primeira fabricação (onde foram realizadas as formulações C96-00 e C64-00) e a segunda produção (formulações C64-25 e C64-50), no Laboratório de Bebidas da UTFPR — Câmpus Francisco Beltrão, sob coordenação do mestre cervejeiro Rafael Duarte.

Primeiramente foi realizada a higienização de todos os equipamentos com água e detergente e posterior higienização com álcool 70 %, em seguida foi coletado 10 litros de água livre de cloro para cada cerveja. Pesou-se aproximadamente 3 kg das amostras de malte com diferentes tempos de germinação e concentrações de enzima, e em seguida os mesmos foram moídos em uma granulometria que expõe o interior do grão e forma a menor quantidade de farinha possível. Os 10 litros de água de cada cerveja foram colocados em recipientes de inox distintos para a mosturação.

A mosturação seguiu os seguintes procedimentos, a água foi aquecida até 40 °C e em seguida adicionou-se as amostras de maltes triturados (para o início da gelatinização do amido) em seguida elevou-se a temperatura para 50 °C para ativação das proteases, a mistura foi submetida a esta temperatura por 30 minutos. Neste momento realizou-se a mensuração do pH em cada formulação. Este pH foi ajustado com ácido fosfórico 0,1 M até 5,4.

Em seguida elevou-se a temperatura para 60 °C (temperatura ideal para desativar as proteases e ótima para as beta amilase que quebram as ramificações beta da amilopectina e quebram amido em açúcar fermentativo), após 20 minutos a esta temperatura mediu-se o índice de refração em graus Brix, e posteriormente realizou-se o teste de iodo (que se definiu negativo para todas as formulações, mostrando que todos os amidos produzidos foram degradados em açúcares fermentescíveis).

Em seguida foi realizada a brassagem, a temperatura foi elevada em 1 °C por minuto até atingir 72 °C (temperatura necessária para que as alfa amilases pudessem começar a agir e liberar as dextrinas). Neste momento observou-se que os mostos de 64 horas apresentaram-se menos fluidos que a cerveja de 96 horas.

Depois de 1 hora a 72 °C, elevou-se a temperatura para 76 °C, mantendo-a por 15 minutos, para inativação enzimática. Depois deste tempo fez-se uma

clarificação das cervejas re-circulando o mosto, seguindo de filtração adicionando 12 litros da água uniformemente aquecida a 80 °C em cada mosto chegando a um volume de 18 litros em cada panela.

Em seguida adicionou-se 5 gramas de lúpulo de amargor (Magnum) em cada mosto aos 15 minutos de fervura e depois que as mesmas foram submetidas à fervura por uma hora, foi adicionado 10 gramas de lúpulo de aroma e sabor (Mittelfriih) em cada amostra, esta etapa foi feita e em seguida foi realizado o "whipool" (agitando o produto uniformemente em movimento espiral), e, em seguida o mosto foi mantido em repouso por 15 minutos.

Depois deste tempo foi realizado o resfriamento dos mostos em trocador de calor e acondicionou-se os produtos em galões previamente esterilizados, fazendo também a oxigenação das mesmas por 5 minutos em cada galão. Em seguida adicionou-se 10 gramas de fermento liofilizado de Saccharomyces carlsbergensis da marca Diamond Lager Yeast. Os galões foram acondicionados em ambiente com temperatura controlada de 12,5 °C para fermentação (com duração de aproximadamente 10 dias para as formulações C96-00 e C64-00 e 12 dias para as cervejas C64-25 e C64-50). Após finalização da fermentação as cervejas foram levadas para o envase, sendo as garrafas higienizadas previamente com água e detergente e posterior higienização com ácido peracético 0,1 %. Antes do envase do produto, foi adicionada uma mistura de suco de limão com sacarose (aproximadamente 15 mL de suco de limão para 500 g de sacarose) para garantir a produção de gás no produto final. Depois de envasadas, as cervejas foram deixadas a uma temperatura de 17 °C por aproximadamente 7 dias para a carbonatação, após o período realizaram-se as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. A figura 1 demonstra o fluxograma geral de elaboração das cervejas artesanais.

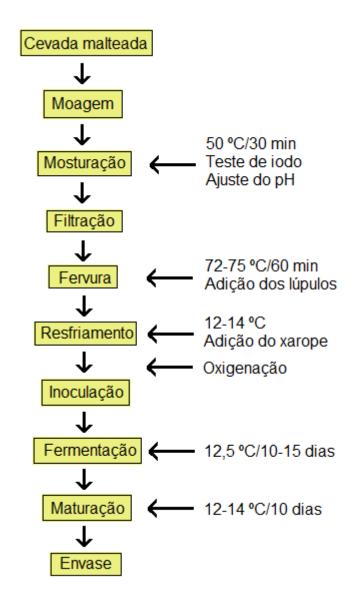


Figura 1 – Fluxograma de elaboração das cervejas artesanais. Fonte: Autoria própria. Elaboração por mestre cervejeiro.

4.3 Análises físico-químicas

Para as análises das cervejas artesanais foram realizadas as análises em triplicata de extrato seco total, acidez total, açúcares redutores em glicose, teor alcoólico, densidade, turbidez, pH, sólidos solúveis e cor. Todas as determinações foram realizadas na amostra descarbonatada. Para remover o CO₂, as amostras foram transferidas para um béquer de 500 mL e agitadas com um bastão de vidro, mantendo a temperatura da cerveja entre 20 e 25 °C (IAL, 2004).

4.3.1 Extrato seco total

Foram transferidos 20 a 25 mL de amostra de cerveja para uma cápsula metálica de fundo chato, sendo que a mesma foi previamente aquecida em estufa a 105 °C, por uma hora, resfriada em dessecador e pesada. A amostra foi evaporada em banho-maria até o resíduo estar aparentemente seco, posteriormente o resíduo foi aquecido em estufa a 105 °C por uma hora, sendo resfriado em dessecador e pesado posteriormente. Esta operação foi repetida até obter-se um peso constante da amostra.

4.3.2 Acidez total

Pipetou-se 10 mL de amostra de cerveja descarbonatada em um erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de água. Em seguida foi adicionado 0,5 mL de fenolftaleína e posterior titulação com hidróxido de sódio padronizado, para neutralização dos ácidos com a solução álcali, até atingir a coloração rósea persistente (pH 8,2-8,4).

4.3.3 Açúcares redutores em glicose

Transferiu-se uma alíquota de 50 mL de amostra para um béquer de 150 mL, em seguida foi neutralizada a amostra com hidróxido de sódio 0,1 M, de acordo com o resultado de acidez total. Evaporou-se a amostra em banho-maria até a eliminação completa do álcool, logo após a mesma foi resfriada e transferida com água para um balão volumétrico de 100 mL. Foi misturado bem e completou-se o volume com água destilada para posterior filtragem. Logo após foi adicionado oxalato de potássio, foi novamente filtrado, e este filtrado foi transferido para bureta. Enquanto isso, em um erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 10 mL de Fehling A e B e 40 mL de água, aquecidos até ebulição. Titulou-se com o filtrado da bureta até que a solução passasse de azul a incolor.

4.3.4 Teor alcoólico

Transferiu-se 100 mL de amostra de cerveja para o conjunto de destilação, onde foram acrescentadas 1 a 2 gotas de solução anti-espumante de silicone para evitar a formação de espuma durante a destilação. O destilado foi recolhido em proveta, contendo 10 mL de água destilada, sendo que foi destilado aproximadamente ¾ do volume inicial completando o restante com água destilada para a determinação da densidade relativa a 20 °C através de Aerômetro de Baumé.

4.3.5 Densidade

Em uma proveta de 250 mL, transferiu-se aproximadamente 200 mL da amostra de cerveja, e a densidade foi medida através de densímetro, onde o resultado foi expresso no próprio equipamento.

4.3.6 Turbidez

A determinação de turbidez foi realizada em turbidímetro digital de bancada, e o resultado expresso no próprio equipamento em unidades NTU.

4.3.7 pH

A determinação de pH foi feita em equipamento pHmetro digital da marca Cap-Lab modelo MCAP-210.

4.3.8 Sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis foi mensurado em refratrômetro digital de bancada, e o resultado expresso no próprio equipamento em ^oBrix.

4.3.9 Cor

A determinação de cor foi realizada em colorímetro digital da marca Chroma Meter modelo CR-400/410. A cor das cervejas artesanais foi avaliada através da

análise dos valores de L, a*, b*, c* e h. Para a análise de dados, utilizou-se apenas os parâmetros L, a* e b*.

Segundo o padrão, a coordenada L* expressa o grau de luminosidade da cor medida (L* = 100 = branco; L* = 0 = preto), enquanto a coordenada a* expressa o grau de variação entre o vermelho e o verde (a* mais positivo = mais vermelha; a* mais negativo = mais verde) e a coordenada b* expressa o grau de variação entre o amarelo e o azul (b* mais positivo = mais amarelo; b* mais negativo = mais azul), conforme exemplifica a figura 2.

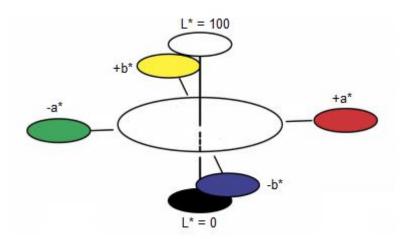


Figura 2 – Padrão de coordenadas de cores e luminosidade.

Fonte: Autoria própria.

4.4 Análises microbiológicas

Entre as análises microbiológicas das cervejas artesanais, foram realizadas contagem de *Staphylococcus aureus*, mesófilos a 30 °C, contagem de coliformes totais e termotolerantes e enumeração de bolores e leveduras, por metodologias oficiais reconhecidas internacionalmente.

4.4.1 Contagem de Staphylococcus aureus

Uma alíquota de 25 mL da amostra de cerveja foi adicionada em 225 mL de solução salina peptonada 0,1%. Partindo desta diluição inicial, transferiu-se em triplicata, 1 mL em 3 placas com meio de cultura Baird-Parker (respectivamente, 0,4 mL, 0,3 mL e 0,3 mL). Com auxílio de alça de Drigalski, o inóculo foi

espalhado cuidadosamente por toda a superfície do meio até sua completa absorção. As placas foram incubadas invertidas por 48 h ± 2 horas a 37 ± 1 °C. Após seleção de colônias, estas foram transferidas para caldo BHI, e incubadas a 37 ± 1 °C por 24 ± 2 horas. Após este período, foram adicionados 0,3 mL de plasma de coelho, e os tubos foram reincubados por 4 a 6 horas a 37 ± 1 °C (ISO 6888-1, 1999).

4.4.2 Contagem de mesófilos a 30 °C

Uma alíquota de 25 mL da cerveja foi diluída em 225 mL de solução salina peptonada 0,1%. Transferiu-se para duas placas de Petri 1 mL de amostra, e adicionou-se cerca de 12 a 15 mL de meio de cultura para contagem padrão em placa (PCA). Homogeneizou-se cuidadosamente o inóculo com o meio de cultura através de rotações das placas de Petri e esperou-se a mistura solidificar deixando-as repousar sobre uma superfície horizontal fria. Inverteu-se as placas e as mesmas foram colocadas em uma estufa a 30 °C ± 1 °C durante 72 h ± 3h. em seguida foram contadas as colônias das placas, usando o equipamento de contagem de colônias, os resultados foram expressos em UFC/mL (ISO 4833, 2003).

4.4.3 Contagem de coliformes totais e termotolerantes

Transferiu-se 1 mL da amostra de cerveja diretamente no centro da placa Petrifilm^{3M} para Contagem de Coliformes (CC). A placa Petrifilm^{3M} CC é um sistema pronto de meio de cultura que contém nutrientes modificados do meio Vermelho Violeta Bile (VRBA), um agente gelificante solúvel em água fria e um indicador tetrazólico que facilita a enumeração das colônias, permitindo a enumeração tanto de coliformes totais como de coliformes termotolerantes.

Em seguida, a amostra foi distribuída com auxílio de um difusor plástico, com o lado rebaixado voltado para baixo, e deixou-a em repouso por 1 minuto para permitir a solidificação do gel. Para contagem de coliformes totais, foram incubadas as placas em estufa a 35 °C + 1 °C por 24 + 2 horas. Para coliformes termotolerantes, a temperatura foi de 44 °C + 1 °C por 24 + 2 horas. Os resultados foram expressos em UFC/mL (AOAC, 2002).

4.4.4 Contagem de bolores e leveduras

Um volume de 25 mL da cerveja foi adicionado em 225 mL de solução salina peptonada 0,1%. Após homogeneizou-se, em seguida transferiu-se 0,1 mL de amostra para a superfície de uma placa com ágar DRBC (Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol). Espalhou-se o líquido sobre a superfície da placa com ágar com auxílio de alça de Drigalski, até que o líquido foi completamente absorvido pelo meio. Foi incubado aerobicamente, com a tampa para cima, em uma região alta da estufa a 25 °C ± 1 °C por 5 a 7 dias, e os resultados foram expressos em UFC/mL (ISO 21527-1, 2008).

4.5 Análise sensorial

Para a análise sensorial, as etapas para seleção, monitoramento e treinamento de julgadores seguiram as recomendações da ISO 8586 (2012).

Primeiramente foram recrutados 30 julgadores, onde foi realizado um processo de seleção que teve por objetivo principal a identificação de pessoas com as habilidades necessárias para a avaliação de cervejas, lembrando que todos os recrutados eram maiores de 18 anos.

A seleção dos julgadores respeitou aspectos como a análise das respostas dadas a respeito da saúde, hábitos alimentares e outras relevantes obtidas no questionário individual; e a habilidade em descrever e classificar características visuais (qualitativo). A partir de tais respostas, foram selecionados 25 julgadores para a etapa de treinamento, onde eram necessários pelo menos 20 participantes.

O treinamento se deu em um Workshop de Análise Sensorial em Cerveja, ministrado no dia 20 de novembro de 2014 na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Francisco Beltrão, estando presentes membros da comunidade acadêmica da universidade.

Os julgadores foram treinados no uso de escalas através de testes de percepção durante o Workshop, a fim de avaliar a capacidade de identificar proporções. Também foi realizado o desenvolvimento da terminologia descritiva, pelo método de Rede (Kelly's Repertory Grid) descrito por Moskowitz (1983), e foram definidos os materiais de referência para os atributos selecionados.

Posteriormente, os julgadores avaliaram quatro amostras dos produtos em questão, considerando os atributos e materiais de referência já definidos, e receberam informações a respeito da importância do produto que está sendo avaliado, bem como, quantificaram características de cor, brilho, corpo, turbidez, formação de espuma, estabilidade de espuma, aroma, sabor, efervescência (efeito frisante) e avaliação global. A quantificação de valores se deu por escala estrutural horizontal de 9 cm, onde o julgador delimitava a intensidade percebida de cada atributo correlacionando à escala com a nota pretendida (com nota mínima 0 e máxima 9). Nos testes finais, a equipe avaliou as amostras segundo os termos descritivos definidos anteriormente, traçando assim o perfil sensorial das amostras.

O projeto foi submetido e está em avaliação pelo Comitê de Ética e Pesquisa envolvendo seres humanos da UTFPR (CEP).

4.6 Análise estatística

Para as análises físico-químicas, foi aplicado teste de média de Tukey (para p $\leq 0,05$). Na análise sensorial, o desempenho individual foi avaliado por meio de Análise de Variância e teste de média de Tukey (para p $\leq 0,05$), considerando 2 fatores, amostra e julgador (ISO 8586, 2012), analisados pelo software Statistica versão 7.1.

Para a elaboração do perfil sensorial das amostras, foi elaborado gráfico aranha com os dados obtidos na análise sensorial em Excel.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas

A tabela 5 apresenta os resultados das médias obtidas nas análises de acidez total e pH das cervejas artesanais produzidas.

Tabela 5 - Acidez total e pH das cervejas artesanais elaboradas de malte com diferentes

tempos de germinação e concentrações de β-glucanase

Formulação	Acidez total (mEq/L)	рН
C96-00	31,36°	4,26 ^c
C64-00	28,97 ^d	4,35 ^b
C64-25	41,52 ^a	4,48 ^a
C64-50	38,83 ^b	4,51 ^a

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p ≤ 0,05).

Na tabela 5 pode-se verificar que os valores de acidez total variaram entre 28,97 da amostra C64-00 e 41,52 da amostra C64-50. Já os valores de pH pouco variaram, sendo a amostra C96-00 com o menor pH, de 4,26, e a amostra C64-50 com o pH mais alto, 4,51.

A acidez foi maior na formulação de cerveja C64-25 (germinada em 64 com concentração de 25 mg.kg⁻¹ de enzima aplicada). Estatisticamente, as quatro formulações diferem quanto ao teor de acidez total. É importante destacar que os maiores resultados deste parâmetro são das formulações com menor adição de enzima β-glucanase (C64-50 e C64-25).

A determinação de pH, em contrapartida, apenas apresentou semelhanças entre as formulações com concentrações de enzima de 25 e 50 mg.kg⁻¹, em um nível de significância de 5 %.

A tabela 6 apresenta as médias obtidas nas determinações de sólidos solúveis, teor alcoólico e açúcares redutores em glicose.

Tabela 6 – Sólidos solúveis e teor alcoólico das cervejas artesanais elaboradas de malte com

diferentes tempos de germinação e concentrações de $\hat{\beta}$ -glucanase

Formulação	Sólidos solúveis (ºBrix)	Teor alcóolico (mL/100mL)	Acúcares redutores em glicose (g/L)
C96-00	7,00 ^{bc}	5,15 ^b	1,51°
C64-00	7,05 ^b	4,32 ^c	1,28 ^d
C64-25	8,40°	6,87 ^a	2,92 ^a
C64-50	6,48 ^c	5,12 ^b	2,51 ^b

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p ≤ 0,05).

A tabela 6 nos mostra os valores obtidos de sólidos solúveis, teor alcoólico e açúcares redutores em glicose. Os valores de sólidos solúveis variaram de 6,48 a 8,40 sendo respectivamente para as amostras C64-50 e C64-25. Os valores de teor alcoólico variaram de 4,32 da amostra C64-00 a 6,87 da amostra C64-25, enquanto os resultados de açúcares redutores em glicose variaram de 1,28 da amostra C64-00 a 2,92 da amostra C64-25.

Houve uma maior produção de etanol durante a fermentação na amostra cujo teor de sólidos solúveis é mais elevado (C64-25). As formulações C96-00 e C64-50 apresentaram semelhança estatística entre o teor de sólidos solúveis e, juntamente com a paridade das formulações C96-00 e C64-00 nesta determinação, todas as demais diferiram a um nível de significância de 5 % nas demais determinações.

O elevado teor de açúcares redutores em glicose presente nas quatro formulações pode ser explicado pela adição de xarope de sacarose ao mosto da cerveja artesanal após a fermentação, adicionada para garantir uma carbonatação adequada, o que resultou em um teor residual de açúcares em todas as cervejas.

O teor alcoólico da formulação C64-25 em comparação com a acidez elevada demonstrada na tabela 5 pode ser produto de uma oxigenação demasiada do mosto antes da adição do inóculo, oxigenação esta que favoreceu maior multiplicação das leveduras e consequentemente a atividade aeróbica em maior quantidade quando comparada às demais formulações, resultando em mais células viáveis para a produção de ácidos metabólitos e, consequentemente, a maior produção de etanol.

A tabela 7 apresenta ainda os resultados obtidos nas determinações de densidade, extrato seco total e turbidez.

Tabela 7 – Densidade, extrato seco e turbidez das cervejas artesanais elaboradas de malte com

diferentes tempos de germinação e concentrações de β-glucanase

Formulação	Densidade (g/mL)	Extrato seco total (g/100mL)	Turbidez (NTU)
C96-00	1,1233 ^⁵	5,01 ^{bc}	379,67 ^a
C64-00	1,1325 ^b	5,17 ^{ab}	389,33 ^a
C64-25	1,1517 ^a	5,27 ^a	458,33 ^a
C64-50	1,1233 ^b	4,97 ^c	449,00 ^a

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p ≤ 0,05).

A tabela 7 indica que os valores de densidade variaram de 1,1233 das amostras C96-00 e C64-50 até 1,1517 da amostra C64-25. O extrato seco variou de 4,97 a 5,27 das amostras C64-50 e C64-25 respectivamente, e os dados da turbidez indicam que os valores ficaram entre 379,67 da amostra C96-00 a 458,33 da amostra C64-25.

Estatisticamente, a turbidez das cervejas artesanais permaneceu semelhante. Com exceção da formulação C64-25, a densidade também foi condizente entre as formulações. Esperava-se, em contrapartida, que a maior turbidez se daria entre as formulações C64-00 e C64-25, por conterem menor ou nenhuma concentração de enzima aplicada, visto que o maior teor de β-glucanas, que seriam degradadas pela β-glucanase, causariam a turbidez em excesso na cerveja. Outros fatores também podem ter alterado a quantificação de turbidez, tal como a ineficiência da padronização do processo de filtração em cervejas artesanais, que podem resultar em um número elevado e impreciso de células em suspensão, interferindo na determinação deste parâmetro.

A determinação de extrato seco formou pares estatísticos entre todas as formulações, mas nem todas as formulações foram pareadas entre si. Fator este onde deve ser considerada a quantidade de células de levedura provenientes da fermentação não precipitadas durante o envase, pela ausência de um processo de clarificação e/ou centrifugação nas cervejas artesanais elaboradas.

Para a análise de cor das cervejas, utilizou-se apenas os parâmetros L, a* e b*. Os parâmetros obtidos das cervejas artesanais foram representados conforme demonstra a tabela 8.

Tabela 8 - Cor das cervejas artesanais elaboradas de malte com diferentes tempos de

germinação e concentrações de β-glucanase

Formulação	L*	a*	b*
C96-00	15,30°	2,05 ^b	5,14 ^b
C64-00	30,62 ^b	0,51 ^c	2,20 ^d
C64-25	35,40 ^a	0,34 ^d	3,01 ^c
C64-50	13,81 ^d	2,94ª	5,98 ^a

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p ≤ 0,05).

A tabela 8 demonstra as variações de resultados obtidos para os parâmetros de cor definidos. As amostras C64-00 e C64-25 resultaram valores entre 30 e 36 para o parâmetro L*, 0 e 1 para a* e 2 e 3 para o parâmetro b*. As cervejas C96-00 e C64-50, em contrapartida, apresentaram resultados diferentes das variações onde as anteriores se encontram, obtendo variações entre 13 e 16, 2 e 3, e 5 e 6, respectivamente, para os parâmetros L*, a* e b*.

Apesar dos parâmetros serem estatisticamente diferentes para todas as amostras, pôde-se verificar uma maior intensidade de coloração vermelha e, em especial amarela, nas formulações C96-00 e C64-50, cores estas características de cervejas artesanais. A análise ainda determinou que estas formulações possuem maior grau de luminosidade, quando comparadas com as demais. As formulações C64-00 e C64-25, portanto, apresentaram menor luminosidade e menor intensidade das colorações características de cerveja.

Com a menor concentração de enzima β-glucanase aplicada nos maltes das formulações C64-00 e C64-25, era esperado que estas formulações apresentassem maior turbidez, e ainda menor luminosidade, devido a maior presença de β-glucanas não degradadas pela ausência da enzima. A produção de cervejas artesanais e sua carência na padronização de produção e de etapas de clarificação podem levar a suspensão de células de levedura no produto final, células estas que podem ter interferido na determinação de cor pelo colorímetro. Ainda assim, é possível notar uma diferença significativa neste parâmetro quando comparado às formulações C96-00 e C64-50.

5.2 Análises microbiológicas

Conforme demonstra a tabela 9, as cervejas artesanais apresentaram contagem apropriada de microrganismos para o consumo humano, possibilitando a realização de análise sensorial. A legislação brasileira define, portanto, que "os contaminantes microbiológicos (...) não devem estar presentes em quantidades superiores aos limites estabelecidos no Regulamento Técnico MERCOSUL correspondente" (BRASIL, 2001).

Tabela 9 – Resultados das análises microbiológicas das cervejas artesanais

	Micro-organismos (UFC/mL)						
Amostra	Mesófilos	S.aureus	Bolores	Leveduras	Coliformes	Coliformes	
					totais	termotolerantes	
C96-00	<1,0x10 ⁰	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ⁰	<1,0x10 ⁰	
C64-00	<1,0x10 ⁰	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ⁰	<1,0x10 ⁰	
C64-25	<1,0x10 ⁰	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ⁰	<1,0x10 ⁰	
C64-50	<1,0x10 ⁰	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ¹	<1,0x10 ⁰	<1,0x10 ⁰	

5.3 Análise sensorial

A tabela 10 apresenta a Análise de Variância realizada com os resultados obtidos dos julgamentos. A avaliação do desempenho individual dos julgadores (para $p \le 0,05$), considerando 2 fatores (amostra e julgador), obteve um p = 0,1676 (p > 0,05), garantindo a reprodutibilidade e a repetitividade entre os julgamentos obtidos dos julgadores.

Tabela 10 - Análise de Variância do desempenho individual dos julgadores

Efeito	Teste	Valor	F	Efeito df	Erro df	р
Julgador	Wilks	0,186728	1,1500	30	339,0914	0,167657
Amostra	Wilks	0,029056	13,781	230	576,5266	0.000000

A tabela 11 apresenta os resultados obtidos dos atributos corpo, turbidez, formação e estabilidade da espuma, aroma e sabor.

Tabela 11 – Corpo, turbidez, formação e estabilidade de espuma, aroma e sabor das cervejas

artesanais segundo análise sensorial

Formulação	Corpo	Turbidez	Formação	Estabilidade	Aroma	Sabor
			de espuma	de espuma		
C96-00	7,17 ^a	0,87 ^a	7,71 ^a	7,84 ^a	7,52 ^a	6,94 ^a
C64-00	5,93 ^b	1,43 ^b	5,95 ^b	5,23 ^b	5,80 ^b	4,20 ^b
C64-25	5,73 ^b	1,44 ^b	6,09 ^b	5,34 ^b	6,59 ^b	2,67 ^c
C64-50	6,92 ^a	0,94 ^a	7,63 ^a	7,74 ^a	4,43 ^c	7,33 ^a

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p ≤ 0,05).

A tabela 11 expressa as variações obtidas entre as formulações analisadas, onde para o atributo corpo encontra-se em aproximadamente 5,8 para as formulações C64-00 e C64-25, e 7,0 para as cervejas C96-00 e C64-50. Tais pareamentos repetem-se nos outros atributos, com um destaque especial ao atributo sabor, onde obteve-se variação de 2,0 a 8,0 distribuída entre as amostras.

Entre os atributos corpo, turbidez, formação e estabilidade da espuma, foram feitos pareamentos estatísticos entre as amostras C96-00 e C64-50, e entre as amostras C64-00 e C64-25, assim como nos resultados obtidos da determinação físico-química de turbidez (tabela 7), onde todas as formulações apresentaram-se semelhantes. Define-se, assim, a amostra de cerveja artesanal com malte adicionado de 50 mg.kg⁻¹ de enzima β-glucanase estatisticamente igual a cerveja artesanal com tempo normal de germinação (96 h), em especial para a turbidez analisada.

Para o atributo aroma, apenas as amostras C64-00 e C64-25 foram caracterizadas estatisticamente iguais. Segundo a análise, o aroma mais intenso foi proveniente da amostra de cerveja com tempo de germinação normal (96 h), e o menos intenso da amostra de cerveja artesanal com malte adicionado de 50 mg.kg⁻¹.

O atributo sabor, em contrapartida, definiu estatisticamente que as amostras C96-00 e C64-50 possuem a mesma intensidade de acidez, *flavor* e intensidade de sabor proveniente do lúpulo utilizado, conforme os materiais de referência desenvolvidos e definidos em treinamento para os atributos selecionados, a um nível de significância de 5 %.

A diferença não pôde ser percebida estatisticamente para os atributos cor, brilho, efervescência (efeito frisante) e avaliação global nas quatro formulações analisadas, conforme demonstra a tabela 12.

Tabela 12 - Cor, brilho, efervescência (efeito frisante) e avaliação global das cervejas

artesanais segundo análise sensorial

Formulação	Cor	Brilho	Efervescência (efeito frisante)	Avaliação global
C96-00	5,92 ^a	5,78 ^a	7,76 ^a	8,52 ^a
C64-00	5,92 ^a	6,13 ^a	7,72 ^a	8,26 ^a
C64-25	5,78 ^a	5,62 ^a	7,80 ^a	8,07 ^a
C64-50	5,92 ^a	6,16 ^a	8,04 ^a	8,47 ^a

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (p ≤ 0,05).

Os atributos cor e brilho variaram entre valores de 5,0 e 6,0, enquanto efervescência (efeito frisante) e avaliação global obtiveram julgamentos mais altos, entre 7,0 e 8,0. Quando comparado com os resultados obtidos na análise físico-química de coloração (tabela 12), percebe-se que não houve boa percepção dos julgadores na avaliação de tal atributo, visto que segundo a tabela 8 as cores das cervejas diferiram estatisticamente, a um nível de significância de 5 %, resultado este não encontrado pela análise sensorial.

A partir dos resultados obtidos na análise sensorial, foi possível descrever o perfil sensorial das cervejas artesanais produzidas, conforme o gráfico 1.

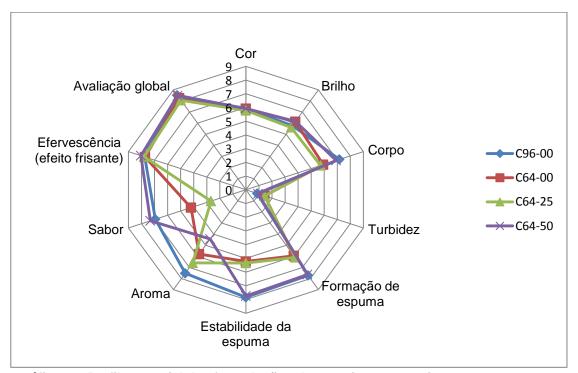


Gráfico 1 – Perfil sensorial das formulações de cervejas artesanais.

Fonte: Autoria própria.

A formulação C96-00 apresentou-se a mais encorpada, com sabor pronunciante, formação e estabilidade de espuma desejáveis, efervescência intensa, brilho e cor moderadas, porém pouco aroma. Esta última característica pode ser proveniente da escolha do lúpulo de aroma utilizado ou ainda a falta de padronização em sua adição na produção de cervejas artesanais, quando este atributo é comparado com as demais formulações, que apresentaram aroma mais pronunciante. A formulação C64-50, sensorialmente, se aproximou de maneira desejável à cerveja com tempo de germinação normal, sendo seus gráficos de fácil sobreposição com exceção, novamente, no atributo aroma, onde caracteriza-se como amostra mais aromática.

A cerveja C64-00 apresentou ótima efervescência, porém cor, brilho e corpo moderados, baixos teores de aroma, formação e estabilidade da espuma, e sabor pouco pronunciável. Esta assemelhou-se mais com a formulação C64-25 que, apesar de ser mais aromática que a C64-00, foi a menos preferida no atributo sabor segundo os julgamentos da análise sensorial.

Apesar das diferenças, a análise sensorial definiu a preferência das quatro cervejas como semelhantes, segundo o atributo aparência global, onde inclusive não houve diferença na análise estatística realizada. No atributo turbidez, assim como em aparência global, não foi possível detectar diferença estatística a um nível de significância de 5 % e, quando comparado ao gráfico, pôde-se perceber uma ligeira diferença para a formulação C96-00 como menos turva, principalmente se comparada a formulação C64-25.

6 CONCLUSÃO

De maneira geral, as análises físico-químicas mostraram que a produção artesanal foi adequada, sendo que os parâmetros físico-químicos estiveram dentro do que a legislação vigente estabelece.

As análises microbiológicas das amostras de cerveja apresentaram resultados satisfatórios para execução da análise sensorial.

Entre as 4 formulações da cerveja artesanal observou-se diferenças significativas em suas análises físico-químicas e sensoriais. O treinamento da equipe julgadora participante da análise sensorial foi determinante para uma efetiva análise sensorial, pois tal análise é facilmente susceptível a diversos fatores que podem alterar os resultados esperados (qualitativos), principalmente quando comparados com os resultados físico-químicos (quantitativos).

Embora haja diferenças significativas no teor de β-glucanas final dos maltes processados em tempo de germinação à 96 h e reduzido (64 h) e aplicação de enzimas 25 e 50 mg.kg⁻¹ de enzima β-glucanase, o teor de β-glucanas foram adequados aos limites exigidos pela indústria cervejeira (< 178 mg/L). Assim entre os produtos elaborados, as cervejas produzidas com malte de tempo de germinação convencional (96 h) e tempo reduzido (64 h) mais adição de 50 mg.kg⁻¹ de enzima β-glucanase, embora apresentassem variações em suas características físico-químicas foram sensorialmente iguais, viabilizando a produção de malte germinado com um menor período de tempo, sem alterar a qualidade do produto final, a cerveja.

REFERÊNCIAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 14140:1998**. Alimentos e bebidas - Análise sensorial - Teste de análise descritiva quantitativa (ADQ). Rio de Janeiro, 1998.

AOAC. Official Method of Analysis – **991.14** – Petrifilm^{3M} Rapid Coliform Count Plate.Dry Rehydratable Film Method for Rapid Enumeration of Coliforms in Foods. 2002.

BAMFORTH, C. W. Malking technology and the uses of malt, in: PORTO, P.D. **Tecnologia de fabricação de malte: uma revisão.** Porto Alegre, 2001.

BAUERMEISTER, A.; REZENDE, I. M.; GIESE, C. E.; DEKKER, H. F. R., BARBOSA, M. A. β1,3-Glucanases fúngicas: produção e aplicações biotecnológicas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, 2010.

BELETI, A. M.; DUARTE, F.; KRAEMER-GEORG, E. J. A temperatura no desenvolvimento da atividade das enzimas (1-3, 1-4) β-glucanases e degradação de β-glucanos durante a malteação. **Revista Ciência Rural**. Santa Maria, v. 42, n. 3, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. **Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997.** Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União. Brasília: 5 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Instrução Normativa nº 54, de 5 de novembro de 2001.** Estabelece a identidade e qualidade dos produtos de cervejaria destinados ao consumo humano. Diário Oficial da União, Brasília, 6 nov. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Lei nº 8918, de 14 de julho de 1994.** Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Intersetorial de Bebidas e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 15 jul. 1994.

BRAZIL, C. Aplicação de β-glucanase no malte produzido a partir das cultivares de cevada BRS-Cauê e Elis. Projeto de mestrado em andamento. UTFPR, 2014.

BRIGGS; D.E. Malting and brewing science. 2°ed. London: Chapman & Hall, 1995.

BRIGIDO, R. V.; NETTO, M. S. **Produção de cerveja**. UFSC. Santa Catarina: 2006.

DRAGONE, G.; SILVA, J. B. A. Cerveja, in: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia.** São Paulo: Blücher, 2010.

EMBRAPA. Aspectos econômicos e conjunturais da cultura da cevada. 2012.

EMBRAPA. Cevada em números. EMBRAPA TRIGO/Socioeconomia, abril, 2014.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1987.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2ª ed., 2005.

FUJITA, A. H.; FIGUEROA, M. O. R. Composição centesimal e teor de β-glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 23, 2003.

GIBSON, G. Malting plant techenology, in PORTO, P.D. **Technologia de fabricação de malte: uma revisão**. Porto Alegre: 2001.

HUGHES, P. S.; SIMPSON, W. J. **Production and composition of hop products.** 1993.

IAL. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3. ed. São Paulo, 2004.

ISO. International Standard Organization. **4833:2003**. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Colony-count technique at 30 °C. 2003.

ISO. International Standard Organization. **6888-1:1999**. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). 1999.

ISO. International Standard Organization. **8586:2012.** Sensory analysis -- General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors. 2012.

ISO. International Standard Organization. **21527-1:2008**. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeast and moulds – Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95. 2008.

KUNZE, W. Technology brewing and malting. 2°ed. Berlin: VLB Berlin, 1999.

LIMA, L. L. A.; FILHO, A. B. M. **Técnico em alimentos: tecnologia de bebidas.** 2011.

MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of foods.** Westport: 1983.

PASTORE, G.M.; BICAS, J.L.; JUNIOR, M.R.M. **Biotecnologia de alimentos**. vol.12, São Paulo: editora Atheneu, 2013.

SANDRA, P. La contribution du houblon au gout et a l'arome de la biere. 1976.

SHARP, F. R.; LAWS, D. R. J. **The essential oil of hops – a review**. Journal of the Institut of Brewing, v. 87, p. 96-107, 1981.

STONE, H. et al. **Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis**. Chicago, v. 28, 1974.

TSCHOPE, E.C.; NOHEL, F. A malteação da cevada, Vassouras: Senai-RJ, 1999.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J.P.; **Bebidas, tecnologia, química y microbiologia**, Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, Espanha, 1997.

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