

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL  
COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

Gabriel Manzatti

Produção de cerveja a base de malte e permeado de soro de queijo

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TOLEDO  
2016

Gabriel Manzatti

Produção de cerveja a base de malte e permeado de soro de queijo

Trabalho de conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos – COPEQ – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR *Campus* Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientadora: Dra. Gracinda Marina Castelo da Silva

TOLEDO  
2016

**TERMO DE APROVAÇÃO  
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

***Gabriel Manzatti***

**PRODUÇÃO DE CERVEJA A BASE DE MALTE E SORO DE QUEIJO**

Trabalho apresentado como forma de avaliação para o Trabalho de Conclusão de Curso I do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, *Campus Toledo*, e aprovado pela banca examinadora abaixo.

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Gracinda Marina Castelo da Silva

---

Prof Dr Clovis Bombardelli

---

Prof Me Henrique Perina

Toledo, Outubro de 2016

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso

## RESUMO

MANZATTI, Gabriel. **PRODUÇÃO DE CERVEJA A BASE DE MALTE E SORO DE QUEIJO**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2016.

O permeado de soro de queijo é um subproduto obtido por processos de separação por membranas (PSM) na produção do CPS (Concentrado Proteico de Soro) com teores de lactose em torno de 10%. Pelo seu teor de lactose, a utilização do permeado poderá ser utilizado na obtenção de bebidas alcoólicas entre elas a cerveja. Na indústria cervejeira, diferentes adjuntos são utilizados para diminuir custos e ou proporcionar novos sabores e aromas a cerveja. Este trabalho teve por objetivo elaborar cervejas utilizando diferentes porcentagens de permeado de soro de queijo (0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%). Os mostos elaborados foram hidrolisados com 0,75 g/L da enzima lactase ( $\beta$ -Galactosidase) a 40°C e pH 6. A fermentação ocorreu em um biorreator com um volume de 6 L pela *Saccharomyces cerevisiae* durante 104 h a 40 °C e pH de 5,6. Foram avaliados o crescimento celular (biomassa), consumo de substrato, formação de produto (etanol) e pH durante a fermentação. Com os resultados encontrados foi possível observar que o maior teor alcoólico obtido foi de 50 g/L para o mosto de 50% de permeado e o menor valor obtido foi de 40g/L para o mosto de 0%. O rendimento de álcool para as amostras foi de 78,39%. O grau de fermentação aumentou com a adição do permeado de 66,67% para 71,88% nas amostras de 0% e 50% de permeado. A adição de permeado se mostrou muito promissor, sendo um adjunto barato e que contém alto teor de açúcares fermentáveis. O permeado auxiliou na fermentação sem prejudicar o rendimento de etanol, o produto obtido não apresentou nenhum dos defeitos de uma cerveja (turbidez, sedimento e insipidez), e o melhor resultado foi a de 50% de permeado produzindo uma cerveja forte, escura, alcoólica (6,1%) de alta fermentação podendo ser comercializada como tal.

**Palavras-chave:** Permeado, cerveja, fermentação alcoólica, tratamento de resíduos.

## ABSTRACT

The cheese whey permeate is a by-product obtained by membrane separation processes (PSM) in CPS production (whey protein concentrate) with lactose content of about 10%. At its lactose content, the use of the permeate may be used for obtaining alcoholic beverages including beer. In the brewing industry, different adjuncts are used to reduce costs and to provide new flavors and beer. This study aimed to prepare beers using different percentages of whey permeate cheese (0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%). The musts were prepared hydrolyzed with 0.75 g / L of the enzyme lactase ( $\beta$ -galactosidase) at 40C and pH6. Fermentation took place in a bioreactor having a volume of 6 L by *Saccharomyces cerevisiae* for 104 h at 40 ° C and pH 5.6. We assessed cell growth (biomass), substrate consumption, product formation (ethanol) and pH during the fermentation. With the results we observed that the higher alcohol content obtained was 50 g / L for wort 50% permeate and the lowest value was 40 g / L for wort 0%. The yield of alcohol for all samples was 78.39%. The degree of fermentation increased with the addition of permeate 66.67% to 71.88% in the sample of 0% and 50% of permeate. The addition of permeate proved very promising, with a cheap deputy and containing high content of fermentable sugars. Permeate assisted in the fermentation without sacrificing ethanol yield, the product obtained did not show any of the defects of a beer (turbidity, sediment and flatness), and with better result was 50% permeate being characterized as strong, dark beer, alcohol (6.1%) of high fermentation can be marketed as such.

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

°C	temperatura (graus celsius)
t	tempo (s, min ou h)
L, mL	volume de solução (litros e mililitros)
$\beta$	<i>beta</i>
$\alpha$	<i>alfa</i>
<i>Ppm</i>	<i>partes por milhão</i>
Rpm	rotações por minuto
g/mL	gramas por mililitro
cel/mL	células por mililitro
g/L.h	grama por litro por hora
OG	densidade original

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma da produção de cerveja.....	08
Figura 2 – Fluxograma da produção de permeado de soro de queijo.....	12
Figura 3 – Hidrólise da lactose.....	12
Figura 4 – Garrafas de permeado etiquetadas e hidrólise da lactose.....	17
Figura 5 – Painel de fundo falso.....	18
Figura 6 – Conexões do biorreator.....	20
Figura 7 – Valor do pH do mosto em diferentes concentrações de permeado de soro de leite durante fermentação nos tempos indicados na metodologia.....	25
Figura 8 – Valores de Substrato, biomassa e etanol em 6 diferentes concentrações (0% - gráfico A, 10% - gráfico B, 20% - gráfico C, 30% - gráfico D, 40% - gráfico E e 50% - gráfico F) no período de 104h.....	27
Figura 9 - Cerveja com 0%, 10%, 20%, 30%, 40% e 50% de permeado (da esquerda para direita) .....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Componentes da cevada e do malte.....	06
Tabela 2 – Temperatura e pH ótimos para enzimas cervejeiras.....	08
Tabela 3 – Componentes da cerveja pronta.....	10
Tabela 4 – Componentes do soro de leite.....	11
Tabela 5 – Poder adoçante relativo de diferentes açúcares.....	13
Tabela 6 – Temperatura e pH ótimos da enzima lactase.....	14
Tabela 7 – Proporções de permeado de soro de queijo/água na água secundária.....	19
Tabela 8 – Densidade de cada proporção de permeado de soro de leite nos tempos indicados na metodologia na etapa da fermentação.....	25
Tabela 9 – Rendimento de etanol nas diferentes concentrações de permeado..	29
Tabela 10 – Classificação da cerveja segundo extrato primitivo, cor, teor alcoólico, fermentação e proporção de malte.....	30
Tabela 11 – Grau de fermentação (percentual de substrato consumido) e produtividade de etanol dos mostos de diferentes proporções de permeado.....	31

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS.....	2
1.1.1 Objetivo Geral .....	2
1.1.2 Objetivos específicos .....	2
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Cerveja.....	4
2.2 Produção de cerveja.....	5
2.3 Permeado de soro de leite.....	10
2.4 Qualidade da cerveja.....	14
2.4.1 Principais defeitos da cerveja.....	15
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>16</b>
3.1 MATERIAIS.....	16
3.1.1 Equipamentos.....	16
3.2 MÉTODOS.....	16
3.2.1 Malte de cevada.....	17
3.2.2 Obtenção do permeado de soro de leite.....	17
3.2.3 Hidrólise da lactose.....	18
3.2.4 Moagem do malte.....	18
3.2.5 Mosturação (Hidrólise Enzimática).....	19
3.2.6 Filtração do mosto e clarificação.....	19
3.2.7 Fervura do mosto.....	19
3.2.8 Inoculo da levedura.....	20
3.2.9 Fermentação.....	20
3.2.10 Métodos analíticos.....	21
3.2.10.1 Determinação da densidade.....	21
3.2.10.2 Determinação do pH.....	21
3.2.10.3 Determinação da Biomassa.....	21
3.2.10.4 Determinação do substrato.....	21
3.2.10.5 Determinação do teor de álcool.....	22
3.2.11 Maturação, clarificação e <i>primming</i> .....	22
3.2.12 Eficiência do processo e parâmetros da legislação.....	22
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>24</b>
4.1 Mosturação (Hidrólise Enzimática) .....	24
4.2 Fermentação.....	24
4.3 Rendimento de álcool e parâmetros da legislação.....	28
4.4 Parâmetros visuais da cerveja (Turbidez, Sedimento e Insipidez) .....	31
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>34</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cerveja é a quarta bebida mais consumida no mundo, atrás apenas do café, chá e do leite. O Brasil, segundo FERREIRA, 2010 é o vigésimo sétimo país em consumo *per capita* de cerveja com apenas 66 litros/habitante ano, entretanto nos últimos anos este cenário está mudando. A grande procura de novos gostos e sabores fez com que surgissem cervejas com vários tipos de adjuntos (milho, arroz, café, mel, trigo, etc) além dos três ingredientes básicos: água, malte e lúpulo. A cerveja é feita em duas etapas: upstream (compreende a parte de moagem do malte, mosturação, filtração e fervura do mosto) e downstream (resfriamento do mosto, a fermentação e a maturação da cerveja) (BELTRAMELLI, 2013).

Na indústria cervejeira, diversos adjuntos podem ser utilizados para baixar custos ou proporcionar novos sabores e aromas as cervejas. Muitos destes adjuntos são matérias primas de baixo valor (milho) e ate mesmo resíduos de outros produtos como é o caso do soro de queijo que é utilizado em bebidas lácteas, evitando assim que se tenha que tratar o resíduo. Este trabalho ira utilizar o permeado do soro de queijo em diferentes proporções para verificar qual o melhor perfil de cerveja produzida de acordo com a legislação Brasileira (OETTERER, 2002).

Na natureza, o permeado de soro de queijo é considerado um agente poluente. Segundo MIZUBUTI, 1994, estima-se que 50.000 litros de soro equivalem a um esgoto de uma cidade de 25.000 habitantes. É um subproduto obtido por ultrafiltração na produção do CPS (concentrado proteico de soro), utilizado em suplementos) com grandes quantidades de lactose (açúcar não fermentescível proveniente do leite), que pode ser hidrolisada para fermentação alcoólica, sendo seu uso ideal para produção de cerveja e outras bebidas alcoólicas sendo fundamental o estudo de novas tecnologias de aplicação e tratamento deste poluente. Além de minimizar seu poder poluente, ainda há a possibilidade de se ter um produto com valor agregado maior.

Existem dois modos de hidrólise da lactose, um ácido e o outro enzimático. A enzima  $\beta$ -Galactosidase proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis* será utilizada para fazer a quebra da lactose em glicose e galactose (ZACARCHENCO et al, 2012).

Por se tratar de um resíduo na indústria de laticínio, seu valor de compra se torna praticamente nulo, fazendo que a cerveja obtida a partir dele, tenha um menor preço no mercado. Pode ser usado tanto para substituir o malte de cevada barateando o preço, bem como ser usado como adjunto, aumentando o teor alcoólico e melhorando a textura da cerveja, são poucos são os trabalhos publicados sobre este resíduo na literatura, dando a este trabalho grande importância.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Produção de cerveja a base de malte e permeado de soro de queijo, avaliar o seu processo de produção.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Hidrólise do permeado do soro de queijo utilizando a enzima  $\beta$ -Galactosidase proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis* a 40° C e pH 6 durante uma hora e meia.
- Mosturação do malte em 64°C por 60 min com 0%, 10%, 20%, 30%, 40% e 50% de permeado de soro de queijo em relação à quantidade total de água secundária.
- Fermentação do mosto com pH inicial de 5,6 a 20°C durante 5 dias (104h).

- Avaliar a eficiência do processo através da densidade, pH, biomassa, substrato e teor de álcool durante a fermentação.
- Maturação da cerveja fermentada a 5°C durante 5 dias e clarificação a 0°C durante 7 dias, *primming* e envase o produto acabado.
- Avaliar os parâmetros da cerveja de acordo com a legislação.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cerveja

A cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais antigas já registradas pelo homem, existe há mais de 5000 anos. Após a colheita de cereais, uma porção acaba ficando sobre a chuva iniciando o processo de malteação do grão. Com o tempo o grão rico em açúcar sofre a fermentação por leveduras selvagens, que convertem o açúcar em álcool e assim se imagina o aparecimento da primeira cerveja produzida na região da Mesopotâmia (BELTRAMELLI, 2013).

Segundo FERREIRA, 2010 o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo com 14 bilhões de litros anuais, porém fica na vigésima sétima posição em consumo *per capita* de cerveja com apenas 66 litros/habitante ano (República Tcheca 147 litros, Alemanha 101 litros). Houve um grande aumento no mercado de cervejas nos últimos anos. A grande procura por produtos diferentes e com matérias primas distintas fez com que inúmeras cervejarias e lojas especializadas em vender insumos abrissem no Brasil.

Em 2012, a revista O Globo fez um levantamento de dados do ministério da agricultura e concluiu que em 20 anos os registros de cervejarias cresceram 15 vezes (150 cervejarias para 2000). Além dos três ingredientes básicos (malte, lúpulo e água) a cerveja também pode apresentar adjuntos. Os adjuntos cervejeiros servem para diminuir custos, acrescentar aromas distintos as cervejas, aumentar a graduação alcoólica e melhorar a sua composição (BECK, 2012).

É comum encontrar cervejas feitas com milho (AmBev), arroz (Budweiser), gengibre (Dopio Malte), abóbora (Jerimoon), mel (Colorado APPIA), açúcar mascavo (Cervejas Trapistas), coentro (Witbier), entre outros. Em 2012, BRUNELLI utilizando mel como adjunto (40%) pode constatar que a cerveja adquiriu menor turvação, maior estabilidade da espuma e cor mais brilhante do que uma cerveja sem o adjunto, além do aumento de 0,5% de álcool pela adição do mel. O diferencial deste trabalho será utilizar como adjunto, o permeado do soro de leite.

Na literatura existem poucos relatos de trabalhos que utilizaram o soro de leite na obtenção da cerveja, entretanto Jason Barber criou em 2012 na Inglaterra uma vodka (Black cow) utilizando soro de queijo. Sua utilização fez com que a bebida tivesse uma textura cremosa única tendo se destacado no mercado inglês (VIEGAS, 2013). Em 2015, a cientista de alimentos Barbara Belodi utilizou o permeado de soro de queijo para a produção de cerveja artesanal nas proporções de 10%, 20%, 30%, 40% e 45% em relação ao malte total. A cerveja com 10% de permeado se destacou entre as demais (G1, 2015).

Segundo a legislação brasileira a cerveja é classificada quanto:

- Ao extrato primitivo (cerveja leve 5% – 10,5%, cerveja comum 10,5% – 12,5%, cerveja extra 12,5% – 14% e cerveja forte superior a 14% em peso);
- À cor (cerveja clara >20 EBC, European Brewery Convention, e cerveja escura <20 EBC);
- Ao teor alcoólico (Cerveja sem álcool <0,5% e cerveja com álcool >0,5%), A fermentação (alta fermentação e baixa fermentação);
- Proporção de malte de cevada. Cervejas que utilizam apenas o malte de cevada são denominadas puro malte, as que apresentam mais de 50% de malte chamado apenas de cerveja e abaixo de 50% cerveja com o nome do adjunto predominante (AQUARONE, 2001).

## 2.2 Produção de Cerveja

O malte é o cereal derivado da cevada, trigo, milho, arroz. Após a colheita inicia-se um processo de germinação por alguns dias, o processo é interrompido quando o teor de umidade chegar a 45%, o grão então é colocado em estufas a temperatura próximas a 70°C obtém-se uma umidade de 10 %, esse processo é chamado de torrefação e serve para a inativação da germinação do grão (OETTERER, 2002).

Segundo AQUARONE, 2001 o principal objetivo da malteação é elevar o conteúdo enzimático dos grãos através da síntese de amilase, proteases e glucanases, aumentando seu poder diastático representado pela Tabela 1. O grão

passa a ser mais calórico após o processo, tendo sua quantidade de açúcar aumentado e de seu amido diminuída durante o processo (OETTERER, 2002).

Tabela 1 – Componentes da cevada e do malte.

Características	Cevada	Malte
Massa do grão (mg)	32 - 36	29 - 33
Umidade (%)	10 - 14	4 - 6
Amido (%)	55 - 60	50 - 55
Açúcares (%)	0,5 - 1,0	8 - 10
Nitrogênio total (%)	1,8 - 2,3	1,8 - 2,3
Nitrogênio solúvel (% de N total)	10 - 12	35 - 50
Poder diastásico, °Lintner	50 - 60	100 - 120
$\alpha$ - amilase, unidades de dextrina	Traços	30 - 60
Atividade proteolítica	Traços	15 - 30

Fonte: CEREDA (1983).

A água é o componente em maior quantidade na cerveja (cerca de 90%), sua qualidade é importante para que não se tenha um produto com gostos desagradáveis e para que se tenha uma boa fermentação do mosto. O pH da água para produção de cerveja deve estar próximo a 5,2 com alcalinidade máxima de 50 ppm e possuir aproximadamente 50 ppm de cálcio em sua composição (VIEIRA, 2005).

O lúpulo cervejeiro é uma flor em forma de cone da videira *Humulus lupulus*, uma parente da planta de *Cannabis*, proporciona amargor e aroma na cerveja. Suas propriedades só foram descobertas em 1167 pela Santa Hildegarda Von Bingen, canonizada em 1584 pelo Papa Gregório XIII (BELTRAMELLI, 2013). Além do amargor proporcionado pelos ácidos-alfas presentes nas glândulas de lupulina, o lúpulo também possui óleos essenciais que proporcionam aromas característicos, ação antisséptica e estabilidade do sabor e da espuma da cerveja. (WOLFE *et al*, 1998).

A levedura não é considerada uma matéria prima e sim um agente de bioreação. Pertencem à espécie *Saccharomyces cerevisiae*, porém existem outras como *S. uvarum* e *S. pastorianus*. São divididas em duas categorias, levedura *Lager* e *Ale*.

A primeira trata-se de uma levedura de baixa fermentação, cuja temperatura ótima de trabalho fica entre 10° e 15° C e sua levedura é a *S. pastorianus*, já a segunda é uma levedura de alta fermentação, sendo favorecida por temperaturas entre 15° e 20° C e sua levedura a *S. cerevisiae* (WOLFE *et al.*, 1998).

A levedura atua na conversão de açúcares simples em álcool e CO<sub>2</sub> por via anaeróbica sendo imprescindível o controle de oxigênio no biorreator. As leveduras podem produzir outros subprodutos dependendo das condições do meio, ésteres, álcoois superiores, diacetil e compostos de enxofre são os mais comuns e eles proporcionam aromas secundários as cervejas (WOLFE *et al.*, 1998).

Segundo BELTRAMELLI, 2013 o processo de produção de cerveja, Figura 1, pode ser dividido em duas etapas, a etapa 'quente' (upstream) e a etapa 'fria' (biorreação e downstream). Pela Figura 1, a etapa quente compreende a parte de moagem do malte, mosturação, filtração e fervura do mosto e a etapa limpa abrange o resfriamento do mosto, a fermentação e a maturação da cerveja.

Denomina-se etapa fria, pois é a parte do processo em que não se pode haver contaminação e o cuidado com o manejo do mosto deve ser triplicado, uma etapa limpa ruim significa contaminação do mosto por leveduras selvagens (*Hansenula*, *Kloeckera*, *Candida*, etc) e bactérias (*Lactobacillus* e *Pediococcus*) causando complicações na etapa de fermentação e no produto final como, formação de película na superfície da cerveja, produção de turbidez e a formação de odor e sabor estranhos (AQUARONE, 2001).

Segundo SILVA, 2005 a etapa de moagem do malte serve: Para o rompimento da casca (para futura filtragem do mosto cervejeiro) no sentido longitudinal expondo o endosperma, desintegração do endosperma (para facilitar ação enzimática), promovendo melhor ação enzimática e produção mínima de farinha muito fina evitando a formação de subprodutos dentro da solução.

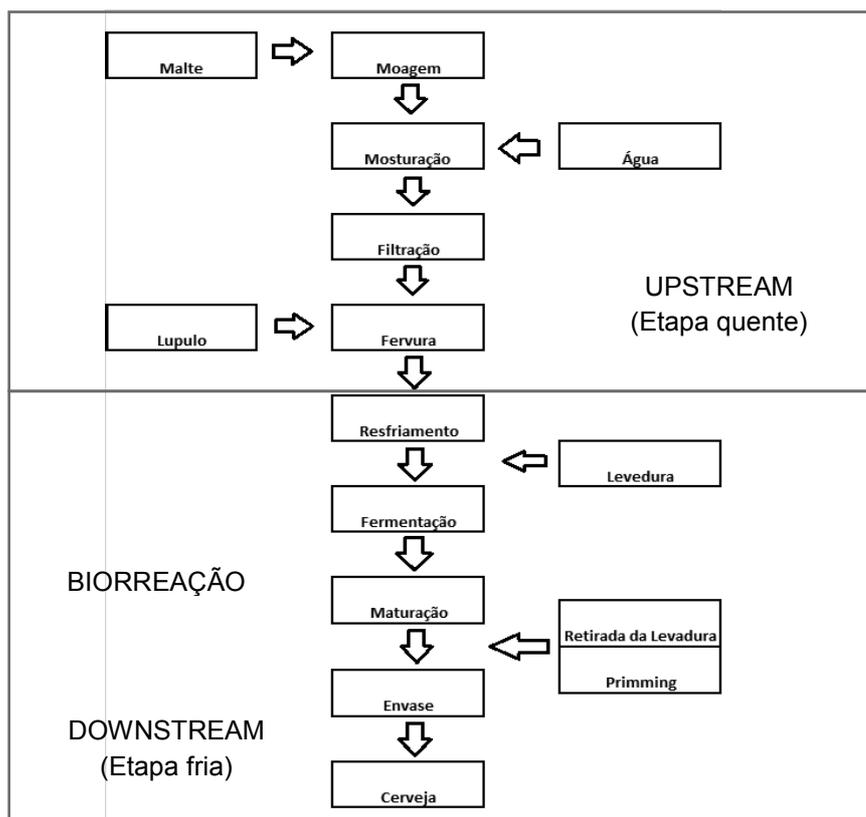


Figura 1 – Fluxograma da produção da cerveja.

Fonte: SANTOS (2005).

Segue-se a etapa que ocorre a quebra do amido presente nos grãos de malte em açúcares fermentescíveis, chamada mosturação. Na Tabela 2 estão apresentadas as diferentes enzimas ativadas durante este processo. Pela tabela verifica-se que cada enzima necessita de uma condição ótima para converter um determinado substrato.

Tabela 2 – Temperatura e pH ótimos para enzimas cervejeiras.

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

Fonte: SILVA (2005).

Enzimas como a  $\beta$ -amilase quebram a amido em açúcares menores e mais fermentáveis enquanto que a  $\alpha$ -amilase quebra em açúcares maiores contribuindo para uma cerveja menos alcoólica e mais encorpada (SCHEFFER, 2013).

A etapa de filtração consiste na clarificação do malte. O mosto passa pela torta formada de cascas de malte, onde as pequenas partículas de sujeira suspensas ficam retidas e após alguns minutos de recirculação o mosto cervejeiro adquire uma característica transparente. A próxima etapa é a fervura do mosto onde é feita a adição do lúpulo, que leva em torno de 60 a 80 minutos. As altas temperaturas (90° - 98°) ajudam a extrair substâncias contidas no lúpulo além de conferir estabilidade biológica, bioquímica e coloidal (SILVA, 2005).

A primeira etapa da parte limpa do processo é o resfriamento. O mosto é resfriado com a ajuda de um trocador de calor, onde a água fria troca calor com o mosto quente fazendo assim com que ele se resfrie. O mosto é resfriado a uma temperatura de aproximadamente 25° C, ideal para a adição da levedura. Antes de inocular o mosto o mesmo é aerado para favorecer o crescimento da levedura no meio (SCHEFFER, 2013).

Quando cessa a fermentação a “cerveja” ainda não esta pronta para ser envasada, pois contem muitas partículas em suspensão. A etapa de maturação serve para que ocorra a deposição de todo particulado em suspensão no mosto no fundo do fermentado. Esta etapa ocorre a uma temperatura próxima aos 5° C. À rápida diminuição da temperatura faz com que a levedura contida no fermentador se precipite. Cinco dias são suficientes para que a levedura se precipite por completo (AQUARONE, 2001).

Depois da maturação a cerveja esta pronta para ser envasada. O processo pode ocorrer de duas formas, por injeção de CO<sub>2</sub> diretamente na cerveja ou por refermentação na garrafa. O primeiro é muito utilizado em grandes cervejarias pela sua rapidez no processo, já o segundo é utilizado em pequenas e micro cervejarias pelo seu baixo custo. A refermentação (fermentação secundária) é quando se coloca uma quantidade de açúcar invertido na cerveja pós-maturação, a levedura ira

consumir o açúcar enquanto esta na garrafa produzindo assim CO<sub>2</sub> no processo (MEGA, 2011). A cerveja pronta apresenta valores de vitaminas relativamente altos se comparados a sua matéria prima (Tabela 3).

Tabela 3 – Componentes da cerveja pronta

<b>Componentes</b>	<b>Gramas (g)</b>
Glicídios	3,8
Proteínas	0,3
Cálcio	5
Fósforo	3
Ferro	0,1
Água	88 a 92
Álcool	3 a 8
Gás carbônico	0,3 a 0,6
Riboflavina (Vitamina B2)	0,003
Niacina	0,2
Tiamina (Vitamina B1)	0,002 a 0,006
Ácido Pantotênico (Vitamina B12)	0,04 a 0,08
Ácido Fosfórico	0,05 a 0,07
Glicerol	0,1 a 0,3

Fonte: SCHEFFER (2013)

Os componentes da cerveja podem sofrer alterações dependendo do tipo de adjunto utilizado. A adição de cascas de laranja na cerveja (witbier) faz com que se tenha uma quantidade maior de ácido ascórbico na cerveja e conseqüentemente uma cerveja mais ácida. O açúcar mascavo eleva o teor alcoólico da cerveja além de proporcionar uma colocação mais escura (BELTRAMELLI, 2013).

### 2.3 Permeado de soro de queijo

Segundo PAULA, 2009 o soro de queijo, soro de leite ou lactosoro é um subproduto resultante da produção de queijo, obtém-se nove litros de soro a cada kg de queijo produzido. O reaproveitamento do soro de queijo torna-se importante uma vez que o resíduo apresenta uma característica altamente poluente (MIZUBUTI, 1994).

O reaproveitamento do soro é de grande importância no setor alimentício, visto que é um subproduto com alto valor nutritivo com uma ampla versatilidade na obtenção de outros produtos como bebidas lácteas e fermentados lácteos (CARMINATTI, 2001).

Segundo ALVES, 2013 o soro de leite representa 55% dos nutrientes do leite, sendo esses: proteínas solúveis, lactose vitaminas, minerais e uma quantidade mínima de gordura. A composição do soro (Tabela 4) não depende apenas do tipo de produto elaborado, mas também do sistema utilizado para sua obtenção, entretanto têm-se dados de uma composição média do soro de queijo (ZADOW, 1984).

Existem dois tipos de soros, o soro doce tem acidez média/baixa e é produzido através da renina. Já os soros ácidos, que apresenta acidez alta, são obtidos através da produção de caseína tornando a obtenção de CPS (concentrado proteico de soro) difícil, onde o leite passa por um tratamento com ácidos para que suas proteínas precipitem (MIZUBUTI, 1994).

Tabela 4 – Componentes do soro de leite.

<b>Componente</b>	<b>Teor (%)</b>
Água	93,4
Lactose	4,6
Proteína	0,7
Cinzas	0,65
Cálcio	0,1
Fósforo	0,08
Gordura	0,05
Outros	0,42

Fonte: MIZUBUTI (1994).

A Figura 2 apresenta o fluxograma para obtenção do CPS. O soro de leite doce é processado por ultrafiltração. As proteínas e gorduras ficam retidas na membrana, enquanto pequenas moléculas como lactose e sais passam através dela gerando o permeado de soro de leite e CPS, utilizado na produção de suplementos alimentares (ZACARCHENCO et al, 2012).

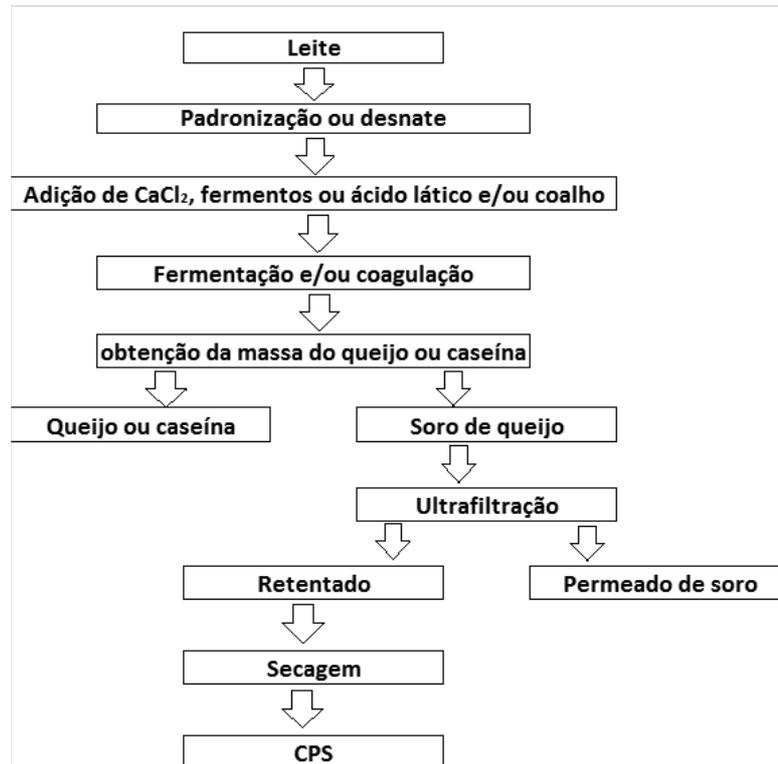


Figura 2 – Fluxograma da produção de permeado de soro de queijo

Fonte: ZACARCHENCO (2012).

A lactose, ou açúcar do leite, é o carboidrato mais conhecido do leite, sendo ele responsável por 40% dos sólidos totais do leite cru e de 70% a 80% no soro de queijo (BIASUTTI, 2008). Ela é formada por uma molécula de glicose e uma molécula de galactose, conforme Figura 3 (ZADOW 1984).

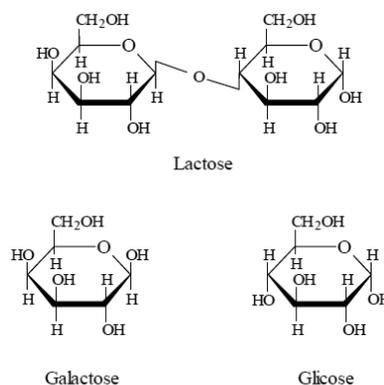


Figura 3 – Hidrolise da lactose.

Fonte: ZADOW (1984).

A lactose é um açúcar com baixo poder adoçante, baixa solubilidade e baixa capacidade fermentativa, por causa disso, seu uso na indústria é muito limitado, porém após um tratamento enzimático ou químico pode ser transformada em outros açúcares com poder adoçante maior (Tabela 5) (ZADOW, 1984).

Tabela 5 – Poder adoçante relativo de diferentes açúcares.

<b>Áçucar</b>	<b>Poder adoçante relativo</b>
D-Frutose	173
Sucrose	100
D-Glicose	74
D-Galactose	32
Lactose	16

Fonte: ZADOW (1984).

No intestino humano a lactose geralmente é hidrolisada pela lactase, assim sendo absorvida na forma de glicose e galactose, entretanto essa enzima não está presente em todas as pessoas fazendo com que a lactose seja fermentada gerando assim desconfortos, gases e diarreias (CARMINATTI, 2001).

O permeado de soro de leite contém aproximadamente 10% de lactose segundo BALLER, 2014 apresentando 0,6% de proteínas e 0% de gordura. Esta quantidade de lactose pode ser utilizada para produção de bebidas alcoólicas, entretanto a lactose deve ser hidrolisada antes da produção. A enzima  $\beta$ -D-galactosidase é a responsável por catalisar a hidrólise da lactose e alguns outros oligossacarídeos. É obtida através de plantas, organismos animais, bactérias e fungos. O pH e a temperatura ótimos (Tabela 6) dependem do tipo de fonte a qual a enzima foi extraída, assim como seu peso molecular varia conforme a fonte (ALVES, 2013).

A reação de hidrólise da lactose tem por teoria formar uma mistura isomolecular de glicose e galactose. Na prática, dependendo das condições, a mistura não é alcançada, pois a galactose pode se polimerizar ou se unir com a lactose para formar oligossacarídeos. Esses polímeros compostos são resíduos de monossacarídeos unidos por ligações hemiacetálicas, ou ligações glicosídicas, em

número que variam de duas á dez unidades. Esses oligossacarídeos também dependem da origem da lactase utilizada (CARMINATTI, 2001).

Tabela 6 – Temperatura e pH ótimos da enzima lactase.

Fontes	pH ótimo	Temperatura ótima (°C)	Massa molecular (kDa)
<i>Aspergillus niger</i>	3,0 - 4,0	55 - 60	124
<i>Aspergillus oryzae</i>	5	50 - 55	90
<i>Kluyverinyces fragilis</i>	6,6	37	201
<i>Kluyverinyces lactis</i>	6,9 - 7,3	35	135
<i>Escherichia coli</i>	7,2	40	540
<i>Bacillus circulans</i>	6,0	60 - 65	
<i>Bacillus sp</i>	6,8	65	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	7,0	42 - 45	
<i>Lactobacillus thermophilus</i>	6,2 - 7,1	55 - 57	530
<i>Streptococcus thermophilus</i>	6,5 - 7,5	55	500 - 600
<i>Mucor pucillus</i>	4,5 - 6,0	60	
<i>Thermus aquaticus</i>	4,5 - 5,5	80	570

Fonte: GEKA e LOPEZ-LEIVA (1985).

Existem dois métodos para a hidrólise da lactase: o método ácido e o método enzimático (este que será utilizado na elaboração deste trabalho). A reação ocorre muito mais rapidamente quando os catalizadores ácidos são utilizados, com temperatura de reação perto dos 150°C, diferente do enzimático com temperaturas entre 30°–40°C, entretanto o método ácido não serve para indústria de alimentos uma vez que os produtos adquirem cor e odor (PACHECO, 2005).

#### 2.4 Qualidade da cerveja

Segundo AQUARONE, 2001 a qualidade da cerveja depende diretamente da qualidade das matérias-primas. Interferem na qualidade da cerveja: a composição química da água; o tipo de malte; a proporção de malte/adjunto; variedade, quantidade, forma e pontos de adição do lúpulo, etc. Cervejas com baixa qualidade podem apresentar alguns defeitos causados por outros fatores como: deficiência na etapa de filtração, fermentação de forma inadequada, armazenamento ruim.

Atualmente um estilo de cerveja chamada *Sour* tem se destacado no mercado cervejeiro. Além dos ingredientes básicos (água, malte e lúpulo) e da levedura de biotransformação, estas cervejas utilizam leveduras selvagens (entre elas *Lactobacillus*) para acidificar o mosto, fazendo com que algumas cervejas adquiram aroma e sabor de leite coalhado, vinagre e limão azedo (AGOSTINI, 2015).

#### 2.4.1 Principais defeitos da cerveja

- Turbidez: uma cerveja torna-se turva por crescimento de microrganismos (fermentação inadequada) ou por coagulação (filtragem deficiente).
- Sedimento: a turbidez tende, com o tempo, a transformar-se em sedimentos. Há, entretanto, outros tipos de sedimentos que tem origem em falhas de processos como: resto de filtração; excesso de estabilizador de espuma; resíduo da lavagem de garrafas, etc.
- Insipidez: carência de carbonização e de espuma na cerveja. Baixa proporção de malte, hidrólise enzimática excessiva, níveis elevados de álcoois superiores são fatores para a insipidez em cervejas.
- Diacetil: quando presente em concentrações superiores a 0,10 ppm confere um sabor desagradável de manteiga a cerveja. É produzida nos primeiras etapas da fermentação, porém tende a diminuir com o tempo e em temperaturas mais altas.
- Fenólico: conhecido também como clorofenólico e confere a cerveja um odor e sabor plastificado. É perceptível em concentrações superiores a 5 ppm e causado por excesso de cloro e iodo na água ou por bactérias contaminantes.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS.

- Malte tipo Pilsen e *Chateau* Special B
- Água potável (pH 7)
- Permeado de soro de queijo
- Lúpulo em pellets
- *Saccharomyces cerevisiae*

#### 3.1.1 EQUIPAMENTOS

- Phmetro
- Refratômetro
- Termômetro
- Densímetro
- Mini biorreator
- Balde de maturação
- Panela de 10 litros
- Proveta de 250 mL
- Trocador de calor tipo chiller de 7,5 metros
- Moinho de cereais
- Shaker de bancada Weg CFW08
- Elermeyer

#### 3.2 MÉTODOS

A produção da cerveja e demais análises foram realizadas nos laboratórios de inorgânica e alimentos da UTFPR, câmpus Toledo. Este trabalho seguiu a metodologia de produção de cerveja de SILVA (2005) adaptando alguns processos.

### 3.2.1 Malte de cevada

Nos ensaios foram utilizados foram o malte claro tipo pilsen e o torrado tipo *Chateau Special B*, comprados da empresa WE consultoria. A aquisição desses produtos foi realizada em uma única compra para ter-se um único lote. Os quais foram armazenados em um local seco e com temperatura variando de 10°C a 25°C.

### 3.2.2 Obtenção do permeado de soro de leite

O permeado de soro de leite foi obtido de numa indústria de produtos lácteos concentrados de uma cidade do oeste do Paraná, em um recipiente de 50 litros, o qual foi homogeneizado e fracionado em frascos de 0,3 litros (Figura 4) e posteriormente congelado à temperatura de - 8,0 em freezer no laboratório de Instrumental da UTFPR, em Toledo.

Para a realização dos experimentos e análises, o permeado de soro de leite foi descongelado sob-refrigeração à temperatura de 3,0°C por 24 h, e a sua utilização foi realizada o mais rápido possível após o descongelamento para não alterar suas propriedades físico-químicas conforme BALLER, 2014.



Figura 4 – Garrafas de permeado etiquetadas.

### 3.2.3 Hidrólise da lactose

A hidrólise enzimática foi realizada em batelada utilizando um shaker de bancada e agitação a 200 rpm a 40° C, pH 6 durante uma hora utilizando a enzima  $\beta$ -Galactosidase proveniente da levedura *Aspergillus oryzae* da marca Lactosil (BALLER, 2014).

### 3.2.4 Moagem do malte

Cerca de 1,5 kg de malte de cevada (1,4 kg pilsen, 0,1 kg *Chateau Special B*) foram moídos em um moinho de cereais com distanciamento ajustável para serem empregadas no mosto cervejeiro.

### 3.2.5 Mosturação (Hidrólise Enzimática)

Nesta etapa o malte moído descrito no item anterior foi misturado com 4 litros de água (denominada água primaria) a 64° C em uma panela de 10 litros (Figura 5) sob agitação constante durante 60 min (pH inicial ajustado em 5,2 com adição de ácido láctico). Para saber se a etapa de sacarificação terminou, um teste de iodo foi feito para indicar a hidrólise total do amido presente no meio. Para isso uma gota de solução de iodo 0,2 M foi adicionada a uma gota do mosto ainda em preparo. A mudança da coloração roxo-azulada para o amarelo indica a hidrólise total.



Figura 5 – Panela de filtração e mosturação de fundo falso.

### 3.2.6 Filtração do mosto e clarificação

Após o término da hidrólise, passou-se para a etapa de filtração e clarificação para separar as cascas e demais resíduos do caldo obtido. As próprias cascas provenientes do malte constituem a camada filtrante. Foi feita a recirculação do caldo durante 10 min para a formação de uma perfeita camada filtrante. Após o término da filtração, a camada filtrante foi lavada por mais 10 min com 6000 ml (água secundária) das proporções de água total/permeado de soro de queijo vistos na Tabela 7.

Tabela 7 – Proporção de permeado de soro de leite/água na água secundária.

ÁGUA SECUNDARIA		
0%	0 mL de permeado	6000 mL de água
10%	600 mL de permeado	5400 mL de água
20%	1200 mL de permeado	4800 mL de água
30%	1800 mL de permeado	4200 mL de água
40%	2400 mL de permeado	3600 mL de água
50%	3000 mL de permeado	3000 mL de água

### 3.2.7 Fervura do mosto

Durante a transferência do caldo filtrado para a panela de fervura a temperatura foi mantida em 78° C para evitar alterações em sua composição. Após toda transferência do filtrado para o interior da panela foram adicionados 1g/L de lúpulo (US - cascade) em pellets comprados na empresa WE consultoria. A temperatura então foi elevada a fervura e mantida por 60 min. Após o término da fervura o mosto foi tangencialmente recirculado à parede do tanque por 5 min, de modo que a força centrípeta resultante auxilie na precipitação de partículas e aglomerados proteicos.

### 3.2.8 Inoculo da levedura

A levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) obtida da empresa WE consultoria e armazenada em geladeira da UTFPR a 5° C. O aumento de escala das leveduras foi feito utilizando um elermeyer de 1000 mL onde 200 mL do meio de cultivo utilizado (mosto recém-preparado) foram transferidos de modo asséptico. Este meio então foi autoclavado (120°/15 min) e refrigerado a 25°C para a transferência das levedura.

O cultivo ocorreu sob aeração de um agitador magnético durante dois dias, sendo que 200 ml de mosto novo adicionados a cada 24h para o aumento celular. Posteriormente foi realizado o inoculo no mosto cervejeiro de modo que se tenha  $1 \times 10^7$  cel/ml no inicio da fermentação. A contagem de células foi feita com a ajuda da câmara de Neubauer.

### 3.2.9 Fermentação

Com o término do resfriamento, 6 litros mosto foram transferidos para o biorreator (Figura 6) e em seguida as leveduras foram adicionadas. A fermentação ocorreu durante cinco dias (104h) a 20°C e com pH inicial de 5,6.

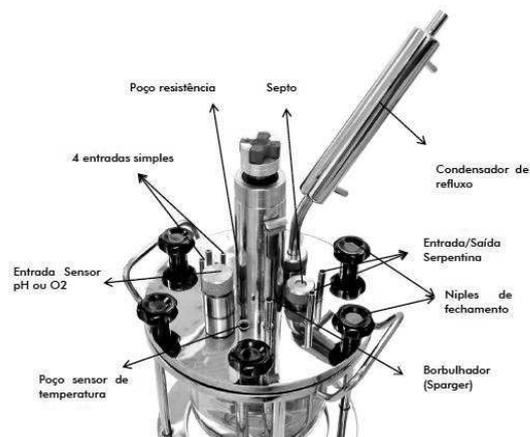


Figura 6 – Conexões do biorreator.

Fonte: Manual do usuário Tec-Bio-Flex.

Durante a fermentação, oito amostras foram retiradas para análises

(densidade, pH, biomassa, substrato e teor de álcool). Foram coletadas 250 mL do mosto nas horas 0, 4, 8, 22, 32, 56, 80 e 104 do início da fermentação. As amostras foram aquecidas por 5 minutos a 80°C para inativação das leveduras, em seguida as seguintes análises foram realizadas.

### 3.2.10 Métodos analíticos

#### 3.2.10.1 Determinação da densidade

A densidade do mosto foi determinada por um densímetro com resultado expresso em g/ml a 20°C.

#### 3.2.10.2 Determinação do pH

O pH do mosto foi determinado em pHmetro digital após estabilização da temperatura em aproximadamente 20°C.

#### 3.2.10.3 Determinação da Biomassa

A biomassa foi determinada por filtração de 10 ml de amostra do mosto em papel filtro previamente pesado. Em seguida o papel filtro foi secado em estufa durante 24h a 98°C e pesado novamente. A diferença entre o papel antes da filtração e depois é a quantidade de biomassa.

#### 3.2.10.4 Determinação do substrato

A determinação do substrato contido no mosto foi feita usando um refratômetro portátil com seu resultado expresso em °Brix.

#### 3.2.10.5 Determinação do teor de álcool

O teor alcoólico foi determinado de acordo com FERREIRA *et al*, 2013 que se utiliza do resultado inicial e final da densidade, seguindo as equações (1), (2) e (3).

$$1^{\circ} \text{ABV} = (\text{DO} - \text{DF}) \times 131 \quad (1)$$

$$2^{\circ} \text{ ABV} = ((\text{DO} - \text{DF}) / 0,75) \times 100 \quad (2)$$

$$3^{\circ} \text{ ABV} = (\text{DO} - \text{DF}) / 0,00738 \quad (3)$$

Onde: ABV (Alcohol by Volume)= Percentual de álcool gerado

DO = Densidade inicial

DF = Densidade final

O resultado é representado em % GA ou % GL (Grau Alcoólico). A fórmula mais utilizada é a equação 2, usada pelo software *BeerTools*® (GRABENWASSER, S.D.) e será confirmado pela destilação da cerveja em um micro destilador.

Para o cálculo do extrato primitivo a seguinte equação (3.5) retirada do software *Cervejarte* de 2004 foi utilizada.

$$P = 668.72 \cdot \text{SG} - 463.37 - 205.35 \cdot \text{SG}^2$$

Onde: P = Graus Plato

SG = Densidade Inicial

### 3.2.11 Maturação, clarificação e *primming*

O líquido do fermentador foi transferido para o balde de maturação de modo que o precipitado de leveduras no fundo do fermentador não vá junto. Em seguida o balde foi armazenado a 5°C durante 5 dias, após este período a temperatura foi ajustada a 0°C onde o balde permaneceu por 7 dias.

Após o período de clarificação foi feita a adição de 2,5 g de açúcar por garrafa de 500ml para o *primming* (carbonatação do líquido para produção de gás na cerveja). O líquido foi envasado com ajuda de um arrolhador mecânico em garrafas novas de vidro âmbar com capacidade de 500 ml.

### 3.2.12 Eficiência do processo e parâmetros da legislação

- Grau de fermentação / percentual de substrato consumido: Equação (4)

$$GF = 100 \times (S_0 - S) / S_0 \quad (4)$$

- Produtividade volumétrica em etanol: Equação (5)

$$Pr = (P - P_0) / t \quad (5)$$

Em que:

$S_0$  e  $S$  = concentração inicial e final no tempo  $t$  em substrato (g/L)

$P_0$  e  $P$  = concentração inicial e final no tempo  $t$  em etanol (g/L)

$t$  = tempo ou intervalo desejado (h)

A cerveja foi avaliada segundo os parâmetros da legislação brasileira e de qualidade de cerveja (Turbidez, Sedimento e Insipidez) segundo AQUARONE, 2013.

Também foi avaliada segundo o rendimento de Etanol por substrato seguindo a equação (6).

- Rendimento (%) = [Etanol prod / (substrato cons \* 0,5368)]\*100 (6)

O valor de 0,5368 refere-se a estequiometria de conversão de etanol.

O rendimento de etanol, pelo °Brix inicial e final do processo obtido durante a fermentação, não fornece a informação correta através da equação de ANDRADE, 2005. Isso porque o refratômetro fornece dados dos sólidos totais no meio (°Brix). O correto seria obter a informação dos açúcares totais através de outras metodologias. O °Brix passa uma informação inconclusiva dos açúcares no meio. Por este motivo utilizou-se o valor de °Brix ajustado pela densidade final), de acordo a equação  $OG = 1,000 + (°Brix * 4)$  (SUCRANA, 2009).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Mosturação (Hidrólise Enzimática)

A etapa de hidrólise da cerveja ocorreu conforme o descrito na metodologia, entretanto foi visto que com o aumento da proporção de permeado no mosto de cerveja houve uma dificuldade maior na etapa de filtração do mosto (pouco antes da fervura) e um aumento significativo na clarificação da cerveja depois da fervura, o permeado contribuiu para a precipitação das proteínas e do lúpulo, fazendo com que o tubo de fundo ficasse mais compacto. Não foi verificada mais nenhuma complicação desta etapa.

### 4.2 Fermentação

Durante a fermentação foi realizado o acompanhamento da densidade (Tabela 8), pH (Figura 7), biomassa, substrato e etanol (Figura 8) durante 104h, em tempos específicos para analisar a cinética de consumo de açúcares no mosto, crescimento celular e conversão do açúcar em etanol.

Pela Tabela 8 verifica-se que no tempo de 0 hora houve para todas as proporções de permeado um aumento de 10% o que equivale a um acréscimo de 0,002 na densidade inicial no mosto. Observa-se que a densidade diminuiu durante a fermentação, isso ocorre devido à conversão dos açúcares fermentescíveis em etanol (MEGA, 2011).

O acréscimo de permeado no mosto não limitou a obtenção do teor alcoólico, pois todas as amostras tiveram a mesma atenuação nas 104 horas (1,018 g/ml).

Tabela 8 – Densidade de cada proporção de permeado de soro de leite nos tempos indicados na metodologia na etapa da fermentação.

Densidade (g/ml)	0h	4h	8h	22h	32h	56h	80h	104h
<b>0%</b>	1,054	1,052	1,052	1,050	1,048	1,040	1,035	1,018
<b>10%</b>	1,056	1,054	1,054	1,046	1,035	1,023	1,020	1,018
<b>20%</b>	1,058	1,055	1,052	1,048	1,038	1,032	1,028	1,018
<b>30%</b>	1,060	1,058	1,057	1,051	1,048	1,035	1,028	1,018
<b>40%</b>	1,062	1,062	1,060	1,057	1,048	1,032	1,028	1,018
<b>50%</b>	1,064	1,060	1,057	1,047	1,040	1,030	1,024	1,018

Na Figura 7 está apresentado a variação do pH das amostras durante a etapa de fermentação.

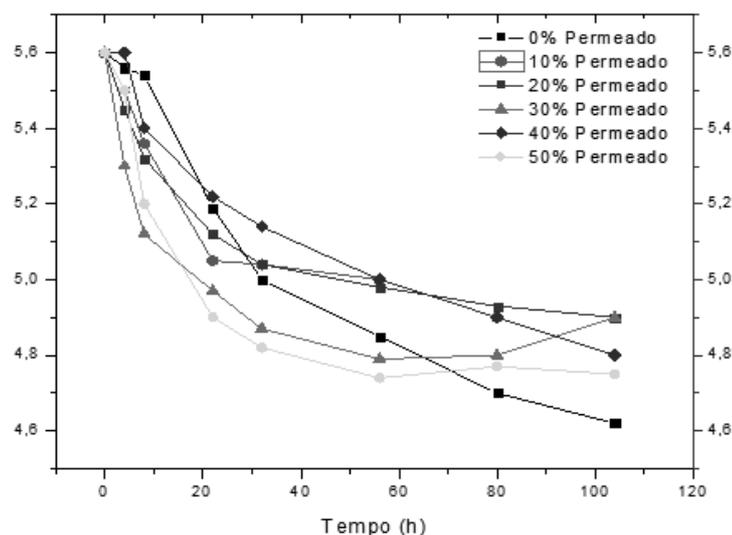


Figura 7 – Valor do pH do mosto em diferentes concentrações de permeado de soro de leite durante fermentação nos tempos indicados na metodologia.

Na Figura 7 o pH do mosto foi ajustado para 5,6 em todas as proporções do permeado. Verifica-se que para todos os diferentes meios houve um decréscimo do pH durante a fermentação, finalizando com 4,6 para o meio sem adição de permeado (0%).

A maior variação de pH foi de 1 ponto na escala referente a amostra de 0% de permeado. A variação de pH foi similar a encontrada por SANTOS, 2005 que iniciou a fermentação com 5,3 e após 160h obteve o valor de 4,2. De acordo com o autor essa queda se deve ao metabolismo da levedura que altera a composição do meio devido a dissociação de ácidos e bases na superfície celular tendendo a regular o pH do meio.

Nos meios com adição de permeado, o pH finalizou com valores de 4,8 (50% permeado); 4,8 (40% permeado), 4,9 (20 e 30% permeado) e 4,75 para o de 10%. Isso demonstra que a adição de permeado no mosto cervejeiro auxilia a tamponar o meio evitando a queda do pH, sendo mais perceptível em menores proporções. Pode se observar que amostras confirmam que com o aumento do permeado no mosto houve menor variação do pH final. Pela Figura 10 verifica-se que para todos os meios houve um crescimento celular (aumento de biomassa) ocasionado pelo consumo (decréscimo) do substrato e a formação (aumento) do etanol (produto) associado ao crescimento.

Em 2013, Lima avaliou a produção de bioetanol a partir do bagaço de malte pela *Saccharomyces cerevisiae*. O autor verificou um crescimento de biomassa (crescimento celular) com o mesmo perfil do apresentado na Figura 10. Uma curva constante com uma leve inclinação, segundo o qual isso se deve ao tipo de mecanismo metabólico que o microrganismo efetua (aeróbio ou anaeróbio). Após a autoclavagem esgotou o oxigênio dissolvido no meio, o que possibilitou a maior produção de etanol na cerveja porém limitou o crescimento celular da levedura.

CARVALHO, 2011 avaliou o processo fermentativo de cerveja pilsen pelo uso de diferentes concentrações por *Saccharomyces cerevisiae*. O autor verificou que a fermentação do mosto cervejeiro ocorreu sem aumento de massa celular. O mesmo

inoculou o mosto com uma concentração da levedura de aproximadamente  $10^8$  células/mL. Desta forma o autor observa que maiores concentrações iniciais de leveduras fermentam mais rápido e obtêm maiores produtividades pois evitam a produção de substâncias indesejadas que comprometem a levedura (stress osmótico).

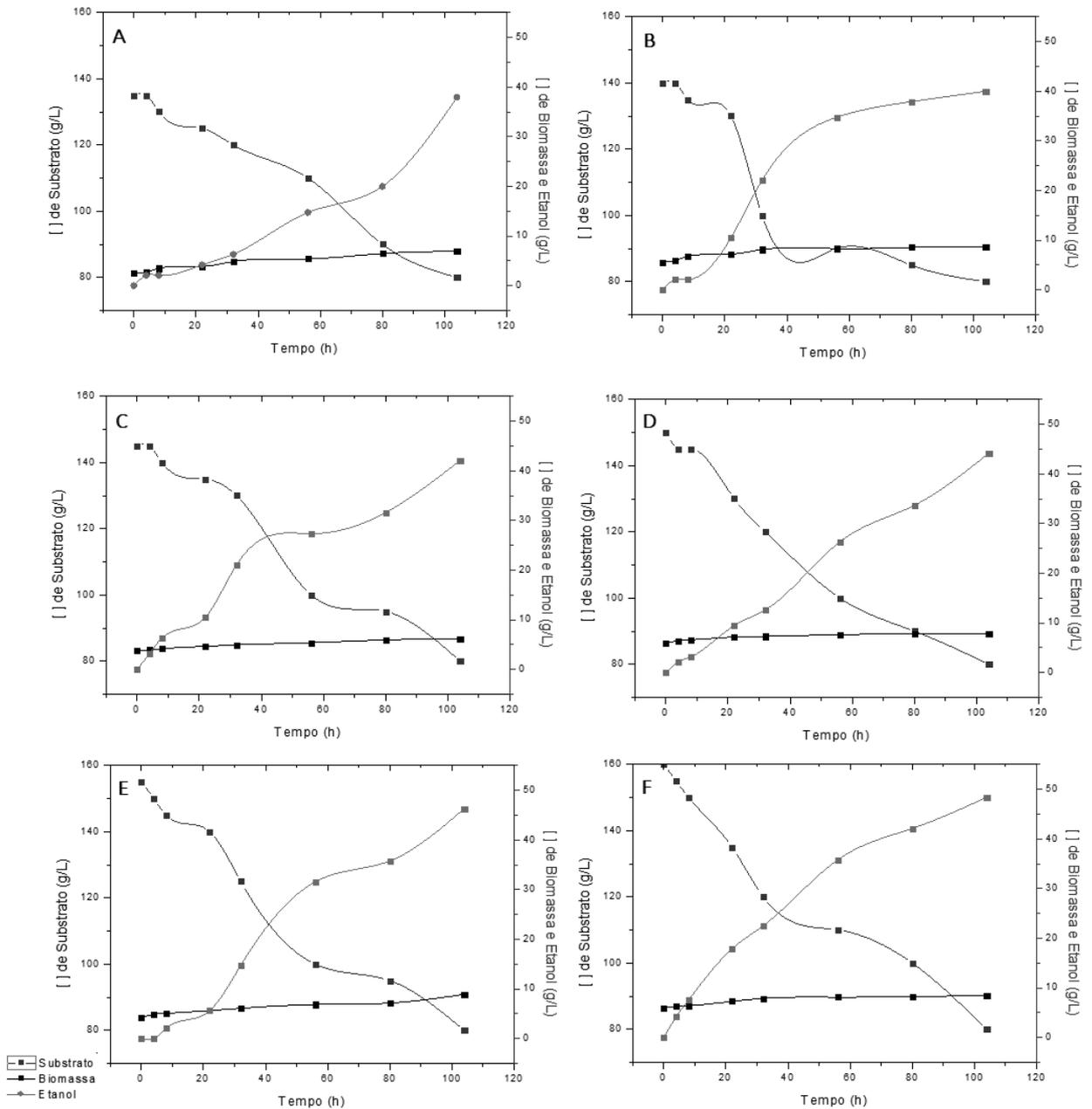


Figura 8 –Valores de Substrato (**Azul**), biomassa (**Preto**) e etanol (**Vermelho**) em 6 diferentes concentrações (0% - gráfico A, 10% - gráfico B, 20% - gráfico C, 30% - gráfico D, 40% - gráfico E e 50% - gráfico F) no período de 104h.

Na Figura 10 observa-se que todas as concentrações do mosto com permeado tiveram um consumo de substrato um pouco maior principalmente nas primeiras horas em relação a amostra de 0%. Isso se deve ao fato da maior concentração de glicose (hidrolisada da lactose), facilitando a conversão em álcool sem aumentar a concentração de açúcares residuais na cerveja (FLORENCIO, 2013). Verifica-se que todos os meios finalizaram com um teor de substrato de aproximadamente 8° Brix.

A Figura 10 (B), da amostra de 10% de permeado, foi a que apresentou o maior consumo de substrato nas 22, 32 e 56 horas, chegando ao final da fermentação com 8° Brix em um menor tempo (60 horas).

O maior teor alcoólico obtido no final foi de 50 g/L para o mosto de 50% de permeado (Figura 10 F) e o menor valor obtido foi de 40g/L para o mosto de 0% (Figura 10 A). No trabalho de PASSOS, 2015, o autor alcançou um valor próximo ao obtido neste trabalho. O autor utilizou o permeado de soro de leite *in natura* para a obtenção de etanol na temperatura de 40°C e pH de 4, com uma concentração de substrato igual a 135 g/L de açúcares o autor obteve um valor de 40 g/L de etanol.

Em relação a atenuação de substrato o autor obteve um valor final de sólidos totais de 90 g/L ou 9° Brix. Esses valores foram obtidos em um menor tempo de fermentação (32h) (PASSOS, 2015). CARVALHO, 2008 justifica que o aumento da temperatura de fermentação e o pH nestas condições torna mais propício o crescimento celular ocasionando na aceleração da formação do produto.

#### 4.3 Rendimento de álcool e parâmetros da legislação

Pela equação 6 foi determinado o rendimento da fermentação para as diferentes proporções. O cálculo para a obtenção do álcool foi em função da densidade final e inicial do mosto (Tabela 8). Na Tabela 9 estão apresentados o rendimento da fermentação para os diferentes meios elaborados.

Tabela 9 – Rendimento de etanol nas diferentes concentrações de permeado.

<b>Mosto</b>	<b>Substrato inicial (g/L)</b>	<b>Substrato final (g/L)</b>	<b>Etanol (g/L)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
<b>0%</b>	<b>135</b>	<b>45</b>	<b>37,98</b>	<b>78,61</b>
<b>10%</b>	<b>140</b>	<b>45</b>	<b>40,05</b>	<b>78,54</b>
<b>20%</b>	<b>145</b>	<b>45</b>	<b>42,10</b>	<b>78,43</b>
<b>30%</b>	<b>150</b>	<b>45</b>	<b>44,15</b>	<b>78,33</b>
<b>40%</b>	<b>155</b>	<b>45</b>	<b>46,20</b>	<b>78,24</b>
<b>50%</b>	<b>160</b>	<b>45</b>	<b>48,27</b>	<b>78,19</b>

Através da Tabela 9 verifica-se que o rendimento obtido médio foi de 78,39%.

DOMINGUES et al., 1999 obteve um rendimento de 80% de etanol pela fermentação do soro de leite. CURI, 2006 obteve um rendimento de 75% na fermentação do mosto cervejeiro contendo somente malte (cevada).

Na Tabela 10 estão apresentados os parâmetros de classificação da cerveja pelo extrato primitivo, cor, teor alcoólico, fermentação e proporção de malte seguindo a legislação brasileira.

Pela Tabela 10 verifica-se que o extrato primitivo para as cervejas de 0% e 10% de permeado de soro de leite se classificariam como uma cerveja extra, já as demais se classificam com uma cerveja forte por apresentarem um extrato maior que 14%. Em relação a cor da cerveja obteve-se um valor de 26 EBC para todos o meio elaborados o que caracteriza uma cerveja escura. Todas as cervejas foram classificadas como cerveja com álcool por apresentarem mais de 0,5% de álcool.

Tabela 10 – Classificação da cerveja segundo extrato primitivo, cor, teor alcoólico, fermentação e proporção de malte.

<b>Permeado</b>	<b>0%</b>	<b>10%</b>	<b>20%</b>	<b>30%</b>	<b>40%</b>	<b>50%</b>
<b>Extrato primitivo</b>	Extra (13,33)	Extra (13,81)	Forte (14,27)	Forte (14,74)	Forte (15,21)	Forte (15,67)
<b>Cor</b>	Escura	Escura	Escura	Escura	Escura	Escura
<b>Teor alcoólico</b>	4,80%	5,10%	5,30%	5,60%	5,90%	6,10%
<b>Fermentação</b>	Ale	Ale	Ale	Ale	Ale	Ale
<b>Classificação da cerveja</b>	Puro malte	Cerveja	Cerveja	Cerveja	Cerveja	Cerveja

As cervejas foram todas obtidas pela alta fermentação, devido ao fermento utilizado ser do tipo Ale e a temperatura de fermentação acima de 15°C. Segundo a Tabela 10 apenas a proporção de 0% de permeado pode ser denominada de cerveja puro malte, por ter como fonte de açúcares fermentescíveis apenas o malte de cevada, já as demais são apenas classificadas como cervejas por ter na composição a proporção de malte de cevada < 50%.

A Tabela 11 apresenta o grau de fermentação / percentual de substrato consumido e a produtividade de etanol. Conforme o porcentual de permeado de soro de leite aumente, o grau de fermentação tende a aumentar, pois conforme a Tabela 8, todas as proporções atingiram a mesma atenuação final (Gravidade final). É normal que em um mosto com uma maior quantidade de substrato apresente um grau de fermentação mais elevado em comparação a um outro mosto de densidade menor.

Na Tabela 11 obteve-se uma produtividade de aproximadamente 0,400 g/L.h. Verificou que a produtividade aumentou com a adição de permeado no mosto. A maior produtividade obtida foi de 0,465 g/L.h para o meio de 50% de permeado. Isso se verifica pelo maior teor do grau de fermentação (Tabela 11) para todos os meios.

Em 2013, a engenheira Carla Zanella Guidini trabalhando com fermentação alcoólica em batelada alimentada obteve o valor de 6,01 g/L.h para a produtividade de etanol. Comparado com os valores obtidos neste trabalho pode-se perceber que a fermentação com o permeado ocorreu mais lentamente, entretanto a concentração de substrato utilizado pela autora foi de 170 g/L com a adição de 4 vezes de substrato durante a fermentação.

A alimentação era realizada para fornecer aos microrganismos um excesso de açúcar durante a fermentação, maximizando assim sua conversão em etanol. No tempo de 30h ela conseguiu produzir 110 g/L de etanol (13,92 % em volume), limite máximo para que o desenvolvimento celular não fosse prejudicado segundo a autora.

Tabela 11 – Grau de fermentação (percentual de substrato consumido) e produtividade de etanol dos mostos de diferentes proporções de permeado.

Mosto	Grau de fermentação	Produtividade de etanol g/L.h
0%	66,67 %	0,364
10%	67,86 %	0,384
20%	68,97 %	0,405
30%	70,00 %	0,425
40%	70,97 %	0,445
50%	71,88 %	0,465

BRUNELLI, 2012 produziu cerveja com mel e avaliou o produto através das características físico-químicas, energéticas e sensoriais. O autor obteve valores de 70,39% de grau de fermentação para uma cerveja de concentração de substrato igual a 150 g/L e uma produtividade de etanol de 0,434 g/L.h. Conforme aumentava a quantidade de mel no mosto, o grau de fermentação e a produtividade de etanol

aumentavam proporcionalmente devido a maior quantidade de açúcar no meio.

#### 4.4 Parâmetros visuais da cerveja (Turbidez, Sedimento e Insipidez)

Na Figura 9 temos as cervejas com 0%, 10%, 20%, 30%, 40% e 50% de permeado (da esquerda para direita). Em questão de turbidez a cerveja que contém permeado em sua composição apresenta-se mais translúcida (clara) em comparação a que não contém permeado (0%).

As cervejas não apresentaram nenhum sinal de sedimento depositado no fundo da garrafa e insipidez. O tempo de maturação foi suficiente para a deposição da maioria dos sólidos suspensos na cerveja e a escolha dos maltes influenciou um sabor característico de cerveja e boa formação de espuma.



Figura 9 - Cervejas com 0%, 10%, 20%, 30%, 40% e 50% de permeado (da esquerda para direita).

## 5 CONCLUSÕES

- A adição de permeado como adjunto na produção de cervejas se mostrou promissor, sendo um adjunto barato e que contém alto teor de açúcares fermentáveis.
- O permeado auxiliou na fermentação, tamponando o mosto, e sua adição aumentou a velocidade de produção de etanol e grau de fermentação dos substratos sem prejudicar o rendimento de etanol que ficou em 78,39%
- O produto obtido não apresentou nenhum dos defeitos comuns de uma cerveja (turbidez, sedimento e insipidez), e segundo a legislação a cerveja de 0% de permeado é caracterizada como uma cerveja puro malte extra, escura, alcoólica (4,8%) e de alta fermentação já a de 50% de permeado, cerveja forte, escura, alcoólica (6,1%) de alta fermentação podendo ser comercializada como tal.

## REFERÊNCIAS

AGOSTINI, Bruno. **Sour beer, a acidez marcante, ganha fôlego no Brasil com lançamentos.** Folha de São Paulo, 2015. Disponível em;<<http://www1.folha.uol.com.br/comida/2015/01/1578664-sour-beer-de-acidez-marcante-ganha-folego-no-brasil-com-lancamentos.shtml>>. Acesso 12.nov.2015.

ALVES, Maura Pinheiro; MOREIRA, Renam de Oliveira; RODRIGUES, Paulo Henrique Júnior; MARTINS, Mayra Carla de Freitas; PERONE, Ítalo Tuler; CARVALHO, Antônio Fernandes. **Soro de leite: Tecnologias para o processamento de coprodutos.** Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFV, 2013.

ANDRADE, Ailton Cesar de. **Estudo da fermentação simultânea à hidrólise de soro de queijo, utilizando lactase e Saccharomyces cerevisiae.**Dissertação. (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005

BACK, Marcio. **Registros de cervejarias cresceram 15 vezes em 20 anos.** Rio de Janeiro, 2012. Disponível em;< <http://oglobo.globo.com/economia/registros-de-cervejarias-cresceram-15-vezes-em-20-anos-7910904>>. Acesso 16.set.2015.

BALLER, Leocir Dante. **ESTUDO DA HIDRÓLISE DA LACTOSE DO PERMEADO DE SORO DE LEITE PELA ENZIMA  $\beta$ -GALACTOSIDASE SEGUIDO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.** Trabalho de conclusão de curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2014.

BELTRAMELLI, Mauricio. **Cervejas, Brejas & Birras.** Editora LEYA, São Paulo, 2013.

BIASUTTI, Eliza Augusta Rolim; AFONSO, Wendel de Oliveira; LOPES, Carlos de Oliveira Junior; COELHO, José Virgílio; SILVA, Viviane Dias Medeiros; SILVESTRE, Marialice Pinto Coelho. **Ação da pancreatina na obtenção de hidrolisados proteicos de soro de leite com elevado teor de oligopeptídeos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol. 44, n. 1, 2008.

BRUNELLI, Luciana Trevisan. **Produção de cerveja com mel: Características físico-químicas, energética e sensorial.** Dissertação de mestrado. UNESP – Botucatu. SP. Fev. 2012.

CARMINATTI, Claudimir Antonio; **Ensaio de Hidrólise Enzimática da Lactose em Reator a Membrana Utilizando Beta-Galactosidase *Kluyveromyces lactis*.** Dissertação de Mestrado de Engenharia Química, UFSC, 2001.

CARVALHO, D. S.; ZAMBIAZI, R. C. **Avaliação do processo fermentativo de cerveja pilsen pelo uso de diferentes concentrações de *Saccharomyces cerevisiae*.** Alim. Nutr., Araraquara, v. 22, n. 3, p. 351-357, jul./set. 2011.

CARVALHO, Walter. **Cinética da fermentação e balanço de massa da produção de cachaça.** Braz. J. Food Technol, VII BMCFB, dez. 2008

CEREDA, M, P; AQUERONE, E; ALMEIDA LIMA, U; BORZANI,W. **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação.** São Paulo, 1983.

CURI, Roberto, Abdallah. **Produção de cerveja utilizando cevada e maltose de milho como adjunto de malte: análises físico-química, sensorial e isotópica.** Brazilian Journal of Food Technology. v. 11, n. 4, p. 279-287, out./dez. 2008

DOMINGUES et al. **Novas metodologias para fermentação alcoólica do soro de queijo**. Lisboa, 1999. Disponível em: <<http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/36711/1/CNQA-C15-30%5b2%5d.PDF>>. Acesso em: 02 de junho de 2014.

FERREIRA, Rubens Hermógenes. **Inovação em Cervejas Especiais na Região Metropolitana de Belo Horizonte**. Dissertação de Mestrado em Administração, Faculdades Integradas de Pedro Leopoldo, 2010.

FERREIRA, Vanessa Schramm; MARTINS, Pamella Karen Bernardelli; TRINDADE, José Luiz Ferreira; TOZETTO, Luciano Moro. **Produção de cerveja artesanal com gengibre**. Encontro de engenharia e tecnologia dos campos gerais. UTFPR. 2013.

FLORENCIO, Isanna M. et al. **Produção de etanol a partir de lactosoro industrial**, Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. n.10, v.10, p.1088-1092, 2013.

G1, São Paulo. **Pesquisa na USP estuda soro de leite como possível matéria prima na produção de cervejas**. São Paulo, 2015. Disponível em <<http://www.milkpoint.com.br/industria/cadeia-do-leite/giro-de-noticias/pesquisa-na-usp-estuda-soro-de-leite-como-possivel-materiaprimeira-na-producao-de-cervejas-96810n.aspx>>. Acesso 18.set.2015.

GEKAS, V; LOPEZ-LEIVA, M. H. **Hydrolysis of Lactose**. Literature Review. Process Biochemistry. V.20, n.1, p.2-12, 1985.

GUIDINI, Carla Zanella. **Fermentação alcoólica em batelada alimentada**. Tese de doutorado em engenharia química. UFU. Uberlândia. MG. 2013.

LIMA, T. C; ARAÚJO, I. O. **Estudo da produção de bioetanol a partir do bagaço de malte**. Congresso brasileiro de engenharia química. UFRRJ. RJ. 2013

Manual do usuário Tec-Bio-Flex. **Sistema de Gestão da Qualidade certificado conforme a Norma ISO 9001:2008**, SP.

MEGA, Jéssica Francieli; NEVES, Etney; ANDRADE, Cristiano Jose. **A Produção da Cerveja no Brasil**. Revista Citino, Vol. 1, n°. 1, Outubro-Dezembro, 2011.

MIZUBUTI, Ivone Yurika. **Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação**. Semina: Ci. Agr, Londrina, v. 15, n.1, p.80-94, março, 1994.

OETTERER, Marília. **Tecnologia de Obtenção da Cerveja**. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.

PACHECO, Maria Teresa Bertoldo; DIAS, Nádia F. G; BALDINI, Vera Lúcia; TANIKAWA, C; SGARBIERI, Valdemiro C. **Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos de soro de leite**. Ciência de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 25(2): p.333-338, 2005.

PASSOS, João Henrique. **PRODUÇÃO DE ETANOL POR MEIO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO PERMEADO DE SORO DE LEITE COM SACCHAROMYCES CEREVISIAE**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Toledo, 2015.

PAULA, Junior César; CARVALHO, Antônio Fernandes; FURTADO, Mauro Mansur. **Princípios básicos da fabricação de queijo: Do histórico a salga**. Revista Inst. Latic. ``Cândido Tostes``, Mar/jun, n° 367/368, 64: 19-25, 2009.

SANTOS, Iratan Jorge. **Cinética de fermentações e estudo de metabolitos e enzimas intracelulares envolvidas na fermentação alcoólica cervejeira**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa. Tecnologia de Alimentos. MG. 2005

SANTOS, M. S. dos; RIBEIRO, F. de M. **Cervejas e Refrigerantes**. São Paulo: CETESB, 2005.

SCHEFFER, Rayane Carla; DIAS, Edimar Nunes; LEMES, Bruno Kissik; LEMOS, Afonso José. **Processo produtivo da cerveja Pilsen**. VII Encontro de engenharia de produção agroindustrial, Campo Mourão, 2013.

SILVA, Filipe Guimarães. **“ A nacionalização que se deseja” – Notas para uma breve História da indústria cervejeira nacional: do Estado Novo às nacionalizações revolucionárias**. Dissertação de Mestrado em História Contemporânea, FCSH, 2012.

SILVA, Pereira. **Produção e avaliação sensorial de cerveja obtida a partir de mostos com elevadas concentrações de açúcares**. Tese de doutorado do departamento de bioquímica, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, São Paulo, 2005.

SUCRANA. **Soluções em engenharia.** 2009 Disponível em;<  
<http://www.sucrana.com.br/tabelas/densidade-solucoes-acucaradas.pdf>>. Acesso  
18.out.2016.

VIEGAS, Eme. **Conheça a primeira vodka do mundo feita com leite, e que promete não dar ressaca.**São Paulo, 2013. Disponível em  
;<<http://www.hypeness.com.br/2014/02/homem-cria-a-primeira-vodka-do-mundo-totalmente-feita-a-partir-de-leite-de-vaca/>> Acesso em 20.out.2015.

VIEIRA, Alex Wirz. **Apostila de Produção de Cervejas Artesanais.** A Cerva Paulista, Associação dos Cervejeiros Artesanais Paulista, Versão 0.4, p.1-30, 2005.  
WOLFE, Edwaard; BICKHAM, Scott, HOUSEMAN, David; WOTRING, Girger; SAPSIS, Dave; GAROFALO, Peter; HANNING, Chuck. **Guia de Estudo para os Exames de Ceveja do BJCP.** Beer Judge Certification Program, St. Louis Park, MN 55416, 1998.

ZACARCHENCO, Patrícia B; VAN DENDER, Ariene G. F; SPADOTI, Leila M, GALLINA, Darlila A, TRENTO, Fabiana K. H. S; SILVA E ALVES, Adriana T. **Permeado se leite: Aplicações que agregam valor aos coprodutos do leite.** Artigo técnico Guia de referência do setor lácteo 2012, ANO XXI. N° 131, Janeiro/Fevereiro 2012, p. 48 – 55, SP, 2012.

ZADOW, J. G; **Advences in Milk Processing.** Utilization of Milk Components. Revista, London Chapman & Hall, p. 485, 1984.