

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA COORDENAÇÃO DO
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

JOÃO FELIPE JUNQUEIRA MATEUS

**COMPARAÇÃO DO AMARGOR DE DIFERENTES TIPOS DE
CERVEJAS EMPREGANDO MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRIA
UV-Vis**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2023

JOÃO FELIPE JUNQUEIRA MATEUS

**COMPARAÇÃO DO AMARGOR DE DIFERENTES TIPOS DE
CERVEJAS EMPREGANDO MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRIA
UV-Vis**

**Bitterness comparison in different types of beers using
spectrophotometry UV-Vis method**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial á
obtenção do título de Licenciado em
Química, da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando
Cabeça

LONDRINA

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

JOÃO FELIPE JUNQUEIRA MATEUS

**COMPARAÇÃO DO AMARGOR DE DIFERENTES TIPOS DE
CERVEJAS EMPREGANDO MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRIA
UV-Vis**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado no dia 27 de junho de 2023 como requisito para obtenção do Título de Licenciado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após a deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado

Data de aprovação: 27/06/2023

Prof. Dr. Luis Fernando Cabeça
(UTFPR – Química)

Profa. Dra Vanessa Kienen
(UTFPR – Química)

Vitor Bonilha
Mestre em Química (UEL)

LONDRINA

2023

RESUMO

A cerveja movimentou o mercado em uma constante expansão, sendo esta, a bebida preferida de milhares de brasileiros. O amargor é uma das principais características entre as cervejas. O sabor amargo da cerveja é oriundo da isomerização de compostos chamados alfa-ácidos provenientes do lúpulo. O controle do padrão de amargor realizado pelas empresas cervejeiras é realizado utilizando o método de espectrofotometria UV-Vis. Assim, o trabalho teve como objetivo realizar uma quantificação de amargor de 3 tipos de cervejas: IPA, Pilsen e Puro Malte, utilizando o método de espectrofotometria UV-Vis e construir uma curva empírica de amargor, comparando os amargores de algumas cervejas no mercado para avaliar se as cervejas em geral, disponíveis para comercialização, adequam-se a faixa de amargor estimado para cada cerveja. Foi possível comparar o resultado da quantificação do amargor analisado com um valor referencial tabelado e com uma curva empírica de amargor. Os resultados foram positivos e mostrou confiabilidade do método de espectrofotometria UV-Vis para a determinação de amargor, além disso os resultados quando analisados e inseridos na curva empírica de amargor assemelham-se com os dados fornecidos pelos fabricantes.

Palavras Chaves: Cerveja, Amargor, Lúpulo, Espectrofotometria UV-Vis.

ABSTRACT

Beer moves the market in a constant expansion, being this the favorite drink of thousands of Brazilians. Bitterness is one of the main characteristics among beers. The bitter taste of beer comes from the isomerization of compounds called alpha-acids from hops. The control of the bitterness pattern carried out by the brewing companies is carried out using the UV-Vis spectrophotometry method. Thus, the objective of this work was to quantify the bitterness of 3 types of beers: IPA, Pilsen and Pure Malt, using the UV-Vis spectrophotometry method and to construct an empirical bitterness curve, comparing the bitterness of some beers on the market to evaluate whether beers in general, available for sale, fit the estimated bitterness range for each beer. It was possible to compare the result of the quantification of the analyzed bitterness with a tabulated reference value and with an empirical bitterness curve. The results were positive and showed the reliability of the UV-Vis spectrophotometry method for determining bitterness, in addition, the results when analyzed and inserted in the empirical bitterness curve are similar to the data provided by the manufacturers.

Keywords: Beer, Bitterness, Hops, UV-Vis Spectrophotometry UV-Vis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição de água para cada estilo de cerveja	16
Tabela 2: Composição química do lúpulo em flor.....	19
Tabela 3: Dados utilizados para curva empírica de amargor da Pilsen	33
Tabela 4: Dados utilizados para curva empírica de amargor da Puro Malte.....	34
Tabela 5: Dados utilizados para curva empírica de amargor da IPA.....	34
Tabela 6: Parâmetros de amargor	35
Tabela 7: Tabela de conversão de iso-alfa-ácidos mg L ⁻¹ em Unidades de Amargor ..	36
Tabela 8: Comparação dos dados de análise/ tabelado (Pilsen).....	39
Tabela 9: Comparação dos dados de análise/ tabelado (Puro Malte)	40
Tabela 10: Comparação dos dados de análise/ tabelado (IPA).....	41
Tabela 11: Comparação dos dados de análise/ tabelado (Cervejaria)	41
Tabela 12: Comparação do IBU com a especificação de cada empresa.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura molecular do alfa ácido.....	20
Figura 2: Fluxograma de Fabricação de cerveja	22
Figura 3: Isomerização dos alfa-ácidos (Humulona) em iso-alfa-ácidos (iso-Humulona) produzindo compostos cis e trans.....	28
Figura 4: Agitador Mecânico contendo as amostras de cervejas	33
Figura 5: Curva empírica de amargor para cerveja Pilsen	37
Figura 6: Curva empírica de amargor para cerveja Puro Malte	38
Figura 7: Curva empírica de amargor para cerveja IPA	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.C.	Antes de Cristo
EBC	European Brewery Convention
IBU	International Bitterness Unit
IPA	India Pale Ale
nm	Nanômetro
rpm	Rotação por minuto
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo geral	12
2.2	Objetivos específicos	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1	Contexto histórico	13
3.2	Matérias Primas	14
3.2.1	Água	14
3.2.2	Malte	17
3.2.3	Lúpulo	19
3.2.4	Adjuntos	20
3.3	Fabricação	21
3.3.1	Moagem do Malte	22
3.3.2	Mosturação	22
3.3.3	Filtração	23
3.3.4	Fervura	23
3.3.5	Tratamento do Mosto	23
3.3.6	Fermentação	23
3.3.7	Maturação	24
3.3.8	Clarificação	25
3.4	Classificação	25
3.4.1	Pilsen	26
3.4.2	Wiessbier ou Weizenbier	26
3.4.3	Pale Ale	26

4	AMARGOR	27
4.1	Técnicas para determinação de amargor	29
4.2	ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis.....	30
5	MATERIAIS E MÉTODOS	31
5.1	Materiais	31
5.2	Método de espectrofotometria UV-Vis.....	32
5.2.2	Curva Empírica de Amargor	33
5.2.3	Leitura da Amostra	34
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6.1	Pilsen	36
6.2	Puro Malte	37
6.3	IPA.....	38
7	CONCLUSÃO	41

1 INTRODUÇÃO

É notório o crescente número de consumidores e apreciadores de cerveja. Antigamente, o tipo de cerveja mais consumido era o tipo pilsen, entretanto, atualmente, diversos estilos de cerveja vêm ganhando espaço no mercado das bebidas fermentadas.

A cerveja é constituída basicamente de água, malte, levedura e lúpulo, sendo assim, as proporções de cada um desses elementos e os variados tipos de processo de fabricação permitem uma infinidade de sabores diferentes. Em decorrência disso, encontra-se uma ampla subdivisão da bebida com diversos estilos: Pilsen, Trigo, Wittbier, Stout, Puro Malte, dentre outras. Uma das características que diferenciam cada uma delas é o amargor.

O lúpulo exerce um enorme impacto sobre o sabor da cerveja, mesmo sendo utilizado em quantidades relativamente pequenas, pois além de ser responsável pelo sabor amargo também interfere no aroma da cerveja (DRAGONE, SILVA, 2010).

Nesse sentido, este trabalho tem como objetivo verificar a efetividade do método de espectrofotometria UV-Vis utilizado para determinação de amargores, em diferentes tipos e marcas de cervejas. Este método permite detectar iso-alfa-ácidos, substância presente no lúpulo, que traz o sabor amargo à cerveja, e quantifica-las em IBU (International Bitterness Unit) também conhecido como “unidades internacionais de amargor”.

Para isso é necessário toda uma preparação da amostra para isolar o iso-alfa-ácido, isso ocorre, pois, a espectrofotometria UV-Vis é um método analítico baseado na absorção de luz por moléculas que passam do estado fundamental para o excitado, quando a luz é absorvida por um analito, a energia radiante do feixe de luz diminui, sendo a absorbância de luz diretamente proporcional a concentração das espécies absorventes de luz na amostra (SEVERO JUNIOR, 2007). Sendo assim, a espectrofotometria UV-Vis é usada em grande escala em indústrias de diversas áreas. Com o preparo da amostra correto, pode ser empregada em uma variedade de métodos e análises diferentes. Neste trabalho foi utilizado o método European Bier Convention 9.8, método que é padronizado entre as cervejarias brasileiras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Comparar o amargor de diferentes tipos e marcas de cervejas utilizando o método de espectrofotometria UV-Vis.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar curvas empíricas de amargor para cada tipo de cerveja (Pilsen, Puro Malte e IPA);
- Quantificar o amargor das cervejas: Pilsen, Puro Malte e IPA pelo método de espectrofotometria UV-Vis;
- Comparar a diferença dos resultados obtidos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Contexto histórico

Não se sabe ao certo a data de criação da cerveja. Segundo Dragone e Silva (2010) é evidente que sua invenção ocorreu há cerca de 10 mil anos. Os registros iniciais de consumo da bebida levam a crer que aconteceu na região do Egito, há milhares de anos Antes de Cristo (A.C).

Nos primórdios de sua criação, a cerveja tinha um papel diferente na sociedade do que tem hoje. Antigamente ocupava um lugar importante nos ritos religiosos e não algo a ser consumido de forma festiva como ocorre atualmente em nossa sociedade.

Outrora, a produção da cerveja era precária e até mesmo a ideia do fermentar os cereais era visto como algo místico para aquele povo, por falta de conhecimentos técnicos e microbiológicos.

Dragone e Silva (2010) afirmam que na idade média, o lúpulo foi introduzido como matéria-prima e a arte cervejeira teve algum avanço, devido ao início da produção em maior escala. Nessa época, ainda se utilizava diferentes ingredientes na elaboração da cerveja. Por este motivo, no ano de 1516, o Duque Guilherme IV da Bavária (Alemanha), aprovou a lei alemã *Reinheitsgebot*, que atualmente é conhecida como a lei mais antiga do mundo sobre a manipulação de alimentos. A lei *Reinheitsgebot* descreve que a cerveja deve ser produzida somente com cevada, lúpulo e água.

De acordo com Silva (2005) entre todas as ervas que têm sido utilizadas ao longo da história para dar sabor e preservar a cerveja, o lúpulo (*Humulus lupulus*) é considerado na atualidade, em nível mundial, como uma matéria-prima essencial para a produção da cerveja.

Ocorre que, com a Revolução Industrial, a produção da bebida foi ainda mais impulsionada com a implementação de processos automatizados e a inserção de outros ingredientes no decorrer da produção. Com isso diferentes sabores foram desenvolvidos com diferentes variações da bebida. Entretanto, prevalecendo a base malte de cevada ou trigo, lúpulo e água.

A introdução da cerveja em nosso país se deu por conta da família real portuguesa, no início do século XIX. Anos mais tarde, em 1888 foi fundada na cidade do Rio de Janeiro a “Manufatura de Cerveja Brahma Villigier e Cia.” E três anos depois, na cidade de São Paulo, a “Companhia Antártica Paulista” (DRAGONE; SILVA, 2010).

O ritmo de globalização dessa bebida acelerou significativamente nas últimas décadas. Microcervejarias proliferaram em diversas regiões do país, além disso, é comum o “hobbie de fazer cerveja em casa”. Pode-se afirmar que a cerveja, a exemplo do carnaval e futebol, já faz parte da cultura brasileira, sendo até mesmo, explorada nos meios de comunicação como forma de estímulo de consumo.

3.2 Matérias Primas

Em 1516 em uma região meridional da Alemanha foi publicada a lei da pureza da cerveja (Reinheitsgebot) que estabelecia que a cerveja deveria ser produzida exclusivamente com malte, lúpulo e água, sem qualquer aditivo. Entretanto, atualmente, é permitido utilizar outras matérias primas na fabricação da cerveja, como por exemplo trigo, milho e arroz (CEREDA E FILHO, 2001; SILVA, 2010).

A levedura da cerveja, no entanto, não deve ser considerada como matéria-prima, sendo que o seu uso se restringe como agente de transformação bioquímica dos ingredientes através da fermentação alcoólica (DRAGONE; SILVA E SILVA 2016).

3.2.1 Água

A qualidade da água é um fator importante para determinar a qualidade da cerveja. Em vista disso é possível notar que os grandes centros cervejeiros da Europa se estabeleceram onde a água disponível era apropriada para a produção de tipos específicos de cerveja. (CEREDA; FILHO, 2001).

Aproximadamente 92 a 95% da cerveja é constituído por água, sendo a principal matéria-prima para a fabricação da cerveja. Portanto é importante que a composição da água seja relativamente uniforme e de boa qualidade (DRAGONE; SILVA, 2010).

Diferentes regiões possuem diferentes quantidades de sais dissolvidos na água além de matéria orgânica e compostos gasosos. Isso influencia no sabor e odor da cerveja ao serem utilizadas para sua fabricação. Além disso, influenciam diretamente nos processos químicos e enzimáticos que ocorrem durante a fermentação. Entretanto, quando necessário, é possível realizar diferentes processos de tratamento de água com o intuito de se obter uma melhor qualidade no produto final (DRAGONE; SILVA, 2010).

Cada estilo de cerveja requer um padrão de íons para favorecer os aromas maltados, lupulados. Outros íons irão influenciar em cervejas mais claras ou escuras, por exemplo cervejas escuras necessitam uma água mais dura, com pH mais alto pois o malte torrado é mais ácido, em torno de 5,0, e cervejas mais claras, uma água mais mole com pH mais ácido, pois o malte tem um pH maior em torno de 6,0. Lembrando que o pH ideal de ativação enzimático é de 5.4 a 5,6.(COGHE, S., et al, 2005).

Alguns dos requisitos necessários para a qualidade da água para cada estilo de cerveja utilizada na fabricação encontram-se listados na Tabela 1.

Tabela 1 - composição de água para cada estilo

Estilos	Cálcio (mg L⁻¹)	Sulfato (mg L⁻¹)	Cloreto (mg L⁻¹)	Alcalinidade (mg L⁻¹)	Alcalinidade Residual (mg L⁻¹)
American light lager, American lager, American Premium lager, German Pilsen, Bohemian Pilsen, Helles	50-80	0-50	50-100	0-40	-60 a 0
Oktoberfest	50-100	0-50	50-100	0-50	-40 a 20
Dortmound Export	75-150	0-50	50-100	40-80	-30 a 30
Viena	50-100	40-120	50-150	40-120	0-60
Munich Dunkel, Schwarzbier	50-100	0-50	50-150	80-120	40-80
Bock, doppelbock, malbock (mais claras)	50-100	0-80	50-150	40-80	0-60
Bock e doppelbock (mais escuras), Eisbock, Baltic Porter	50-100	0-80	50-150	80-150	60-120
Pale Bitter Ales	50-100	100-200	50-100	0-80	-60 a 0
Ambar bitters, Ales escocesas	50-150	100-200	50-100	40-120	0-60
English Brown Ale, Brown Porter	50-100	50-150	50-100	80-150	30-90
Weizen, Witbier, Cream Ale, Kolsh	50-100	0-50	50-100	0-80	-30 a 0
American Pale Ale, XPA, American IPA, Double IPA, Saison (clara)	50-150	100-400	0-100	40-120	-30 a 30
Altbier, ESB, Irish Red, Am, Amber Lager, English IPA, Roggenbier, Belgian Pale, Saison	50-150	100-300	50-100	40-120	0-60
Am, Brown Ale, English Brown, Brown Porter, Robust Porter, Dry Stout, Sweet Stout, Oatmeal Stout, Foreign Extra	50-150	50-150	50-150	80-160	60-120

Stout, Oatmeal Stout, Foreign Extra Stout, American Stout, Dunkel weizen					
Belgian Blond, Strong Golden Ale, Tripel	50-100	50-100	50-100	0-40	-30 a 0
Strong Scotch Ale, Biere de Garde, Dubbel, Old Ale, Barleywine	50-100	50-100	50-150	40-120	0-60
Foreign, Extra Stout, American Stout, Russina Imperial Stout, Weizenbock, Belgian Dark Strong Ale, Old Ale	50-100	50-150	50-150	120-200	120-200

Fonte: Adaptado de PALMER e KAMINSKI, 1963.

Para certificar a qualidade do produto final é necessário realizar análises microbiológicas regularmente além de avaliar odor, sabor, coloração e turbidez (Portaria 888, 2021). Para ter-se uma boa qualidade microbiológica da água pode-se clorar e decolorar quando for utilizar na fabricação da cerveja.

3.2.2 Malte

Malte pode ser definido como o produto resultante da germinação, sob condições controladas, de qualquer cereal (cevada, arroz, milho, trigo, aveia, sorgo, triticale, etc. (DRAGONE E SILVA, 2010).

O malte de cevada é o cereal mais utilizado na fabricação de cervejas pois apresenta menores dificuldades técnicas e em sua composição apresenta um alto teor de amido. Além disso a proteína do malte de cevada apresenta quantidade e qualidade suficiente para a nutrição das leveduras durante a fermentação, e também, para a formação de espuma no produto final. (CEREDA E FILHO 2001).

A maltagem tem como objetivo elevar o conteúdo enzimático do cereal através de síntese de amilases, proteases e glucanases, permitindo aumentar o seu poder

diastático. Dessa forma, as enzimas catalisarão as reações de quebra das macromoléculas em compostos menores solúveis no mosto (CEREDA; FILHO, 2001).

Para a transformação do grão de cereal em malte é necessário a semente estar em condições favoráveis de germinação, em seguida, é interrompida a germinação assim que o grão inicia a criação de uma nova planta (Dragone e Silva, 2010).

Este processo é constituído por três etapas: maceração, germinação e secagem.

Na primeira etapa, após o cereal ser limpo é colocado em tanques cilíndricos para ser macerado com água, o processo é realizado aproximadamente em dois dias, quando o cereal atinge 42-48% de umidade.

Na segunda etapa, a cevada macerada é colocada para germinar em compartimentos apropriados onde ocorre um fluxo de ar úmido atravessando a cevada e mantendo a temperatura entre 15 a 21°C. Quando é observado o crescimento do embrião em dois terços do comprimento esta etapa é encerrada. O tempo desse processo varia de 3 a 6 dias dependendo da câmara de germinação.

A terceira etapa desenvolve-se em compartimentos denominados secadores, que apresentam fundo falso perfurado, onde ocorre um fluxo de ar quente e seco. Para um malte claro a secagem é realizada por longos períodos e baixas temperaturas, enquanto para um malte escuro a secagem rápida e quente (A temperatura, tanto para a secagem do malte claro quanto para o malte escuro, pode variar entre 88°C a 100°C dependendo do estilo e especificidade de cada cerveja). O processo ocorre em três etapas distintas. Na primeira, trabalha-se com a temperatura de 49-60°C, onde a água livre é retirada, apresentando umidade de 48%. Na segunda, aumenta-se a temperatura até 71°C, atingindo 12% de umidade. Por fim, na terceira etapa, aumenta-se a temperatura para até 88°C incorporando a maior parte do sabor característico do malte ao grão. A umidade final é de 4-5% no malte de cerveja "lager" e de 2-3% para o malte de cerveja "ale" (Cereda e Filho 2001).

3.2.3 Lúpulo

“O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta dióica, ou seja, possui flores masculinas e femininas, é de difícil cultivo e típico de regiões frias.” (DRAGONE; SILVA; SILVA, 2016, p 61).

O interesse na fabricação de cerveja é sobre a planta feminina, e as flores delas resultantes. As flores femininas contêm lupulina que é responsável pelo aroma e amargor típico das cervejas. Além de conferir aroma e amargor apresenta ação antisséptica e contribui para a estabilidade do sabor e espuma da cerveja. (CEREDA, FILHO, 2001).

A composição do lúpulo é dada na Tabela 2.

Tabela 1 - Composição química do lúpulo em flor

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

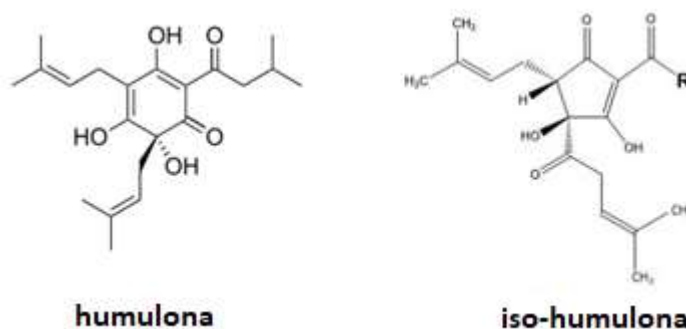
Fonte: Tschope (2001)

As resinas e os óleos essenciais oriundas da lupulina são de suma importância para a cerveja. As resinas são constituídas principalmente de alfa e beta-ácidos que também são chamados de humulonas e lupulonas respectivamente. Os alfa-ácidos possuem uma grande importância em detrimento dos beta-ácidos portanto são a fonte principal de amargor na cerveja. Quando o mosto é fervido as moléculas de alfa-ácidos são isomerizadas para a forma de iso-alfa-ácidos que são muito mais amargos e

solúveis que os alfa-ácidos (Figura 1). Os óleos essenciais são uma mistura de vários elementos que influenciam tanto no aroma quanto no sabor da cerveja (CEREDA; FILHO, 2001).

O lúpulo é disponibilizado para as indústrias como flores secas (in natura), péletes ou em extratos. Sendo que os dois últimos são os mais viáveis, pois possuem uma concentração maior de alfa-ácidos (Figura 1) necessitando de um menor espaço de armazenamento, além disso são mais estáveis e de fácil manipulação (CEREDA; FILHO, 2001).

Figura 1 - Estrutura molecular do alfa ácido



Fonte: Malowicki; Shellhammer (2005) – Modificada

3.2.4 Adjuntos

Adjuntos são definidos como produtos não maltados que fornecem carboidratos para o mosto. Eles podem substituir parte do malte na produção de cerveja sendo produtos do beneficiamento de cereais ricos em carboidratos. Os cereais mais utilizados são: milho, arroz, trigo, cevada e sorgo. Além disso, contribuem para a qualidade físico-química e sensorial da cerveja (CEREDA; FILHO, 2001).

O uso de adjuntos contribui para a produção de açúcares fermentescíveis e dextrinas não fermentáveis, de modo similar que em um mosto feito somente com malte. O limite máximo de adjunto na formulação da cerveja é determinado pela

capacidade enzimática do malte de hidrolisar o amido existente nas matérias-primas, como também, pela capacidade de nutrir a levedura. Entretanto, o uso em excesso, ocasiona em mostos com pouca capacidade de nutrição e um produto final “aguado” (CEREDA; FILHO, 2001).

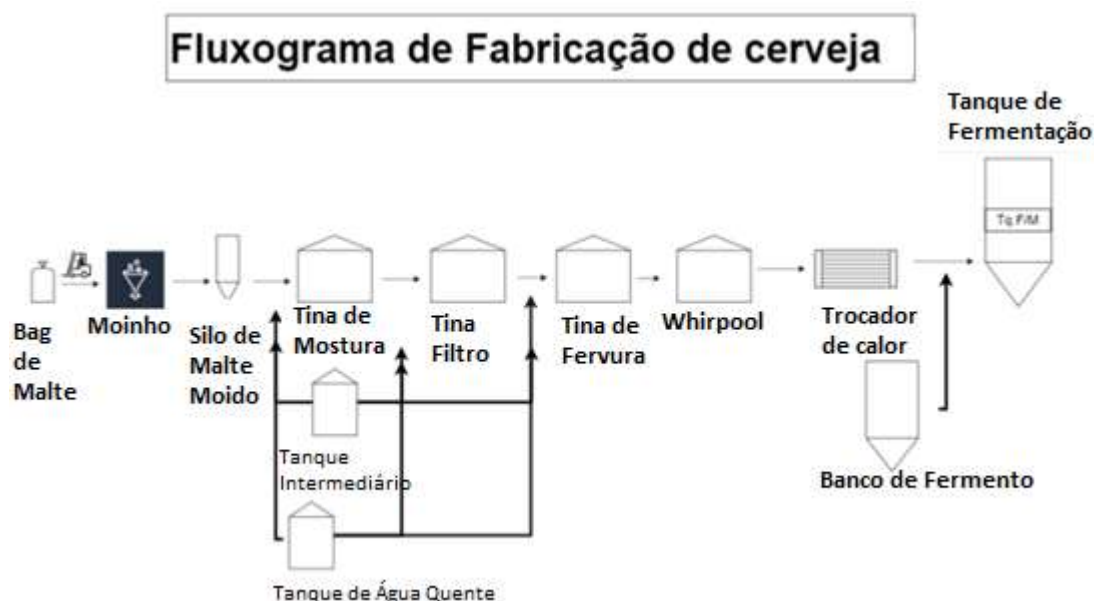
O avanço da tecnologia de processos enzimáticos possibilitou a obtenção de xaropes de maltose derivados do milho contendo determinados perfis de carboidratos, como, por exemplo, a maltose de cereais na forma cristalina. Isso permitiu a introdução de adjuntos sem alterar o perfil de carboidratos do mosto e, conseqüentemente, evitaram dificuldades na mosturação, fermentação e maturação (Dragone e Silva 2010).

No Brasil, boa parte das cervejarias utilizam xarope de milho (alta maltose), como adjuntos, na formulação de suas cervejas” (CEREDA; FILHO, 2001).

3.3 Fabricação

O processo de fabricação de cerveja pode ser dividido em oito etapas: moagem do malte, mosturação, filtração, fervura, tratamento do mosto, fermentação, maturação e clarificação.

Figura 4 – Fluxograma de Fabricação de cerveja



Fonte: COGHE, S., et al, 2005

3.3.1 Moagem do Malte

A moagem do malte é realizada por moinho de rolos ou de martelo e tem como objetivo: obter a maioria das cascas rompidas longitudinalmente; desintegração total e uniforme do endosperma; obter o mínimo possível de farinha fina. Promovendo a ativação das enzimas (CEREDA; FILHO, 2001) (DRAGONE; SILVA, 2010).

Quando se escolhe o moinho de rolos, deve escolher também a tina filtro e caso escolha o moinho de martelo deve-se escolher o filtro prensa. Lembrando que a tina filtro evita a maior quantidade de amargores indesejados dos fenóis porém tem-se um menor rendimento de extração de extrato, em contra partida o filtro prensa tem-se um melhor rendimento de extração de extrato contudo arrasta-se maiores quantidades de fenóis ocasionando mais amargores indesejados.

3.3.2 Mosturação

Na mosturação é adicionado o malte moído em água em temperatura controlada, originando o mosto, com objetivo de converter o amido do malte em açúcares fermentescíveis e solubilizar as substâncias do malte em água.

Quando a temperatura atinge 72°C é verificado se ocorreu a hidrólise do amido através do teste de sacarificação com solução de iodo. Após a confirmação da hidrólise o mosto é aquecido até 76°C com intuito de inativar as enzimas presentes (DRAGONE; SILVA, 2010).

3.3.3 Filtração

Após a mosturação os resíduos insolúveis (casca do malte, fragmentos da camada de aleurona, plúmula, restos da parede celular e proteína coagulada) são separados por filtração. Após a filtração é realizado a lavagem dos resíduos insolúveis (bagaço de malte) com água e posteriormente vendida como alimento animal devido seu alto teor de fibra (CEREDA; FILHO, 2001) (DRAGONE; SILVA, 2010).

3.3.4 Fervura

A fervura do mosto tem como finalidade a estabilidade biológica e bioquímica, como também desenvolvimento de cor, aroma e sabor. Nesta etapa, é permitido a evaporação máxima de até 10% do volume inicial, onde alguns compostos voláteis indesejados, como o dimetilsulfeto, são eliminados.

Durante a fervura é adicionado o lúpulo que contribui para a esterilização do mosto e ocorre a extração dos compostos amargos e aromáticos do lúpulo (CEREDA; FILHO, 2001) (DRAGONE; SILVA, 2010).

3.3.5 Tratamento do Mosto

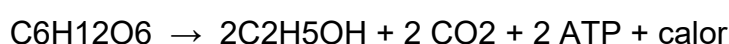
No final da fervura o “trub quente” (complexos de proteínas, resinas e taninos) e resíduos do lúpulo são separados em tanques de decantação denominados de “whirlpool”. Posteriormente o mosto é resfriado para 14-16°C na alta fermentação e 6-12°C na baixa fermentação.

3.3.6 Fermentação

O processo fermentativo tem como objetivo a conversão de açúcares do mosto em etanol e gás carbônico pela levedura (DRAGONE, SILVA, 2010).

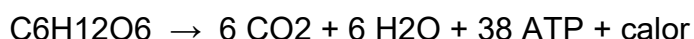
A fermentação se inicia com a adição de fermento no mosto. A quantidade ideal de fermento utilizado é quando resulta na concentração de 1×10^6 UFC (Unidades formadora de colônias) de levedura por mililitro de mosto (SILVA, 2005).

As leveduras catabolizam (quebram) os açúcares por dois caminhos distintos; um sob condições de anaerobiose e outro sob condições de aerobiose. Em anaerobiose a levedura fermenta a glicose produzindo duas moléculas de etanol, duas moléculas de gás carbônico e energia em um processo de oxirredução. Essa reação é exemplificada na seguinte equação (Equação 1) (SILVA, 2005):



(Eq. 1)

Em aerobiose (na presença de oxigênio) a levedura oxida completamente a molécula de açúcar produzindo gás carbônico, água e energia. Essa reação é exemplificada na equação 2 (SILVA, 2005):



(Eq. 2)

Para o processo de fabricação de cerveja ambas as reações são importantes. A reação em aerobiose é energeticamente mais eficiente e usada no início do processo de fermentação promovendo o crescimento e revigoramento do fermento. A reação em anaerobiose tem função de transformar o mosto em cerveja pela conversão do açúcar em álcool e gás carbônico (SILVA, 2005).

3.3.7 Maturação

A maturação também é denominada como fermentação secundária e o seu processo dura um longo tempo (2 a 4 semanas) em baixa temperatura (0°C a 4°C). Na fermentação secundária o açúcar residual da cerveja continua a ser lentamente fermentado (CEREDA; FILHO, 2001, DRAGONE; SILVA, 2010).

Os principais objetivos da maturação são: produção do gás carbônico que ocasiona a carbonatação da cerveja; precipitação dos resíduos da levedura que inicia a clarificação da cerveja; melhoramento do odor e sabor da cerveja com a redução da

concentração de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico (CEREDA; FILHO, 2001, DRAGONE; SILVA, 2010).

3.3.8 Clarificação

A clarificação é realizada para se obter um produto brilhante e límpido com a remoção das substâncias insolúveis que permaneceram na cerveja durante o processo de fabricação. Segundo Dragone e Silva (2010), a clarificação pode ser realizada por quatro técnicas: sedimentação por gravidade, uso de agentes clarificantes, centrifugação e filtração.

Após esses principais processos a cerveja ainda pode ser carbonatada por injeção de CO₂, se necessário, pasteurizada com o intuito de conferir estabilidade biológica à bebida, e, por fim, engarrafada.

3.4 Classificação

Com o aumento de consumo de cerveja, vêm sendo criada uma enorme variedade de estilos. No entanto, podem ser diferenciadas pelo processo de fabricação utilizado.

A partir do meio de fermentação utilizado no processo de fabricação e a temperatura de maturação é possível dividir os tipos de cervejas em dois grupos: as "Ale" e as "Lager". As "Ale" são produzidas com leveduras de alta fermentação (18-22°C), os principais tipos de Ale são: "Pale Ale", "Brow Ale", "Mild", "Bitter", "Stout", "Porter" e "Barley Wine". As "Lager" são fabricadas com leveduras de baixa fermentação (7-15°C), os tipos mais representativos de "Lager" são: "Pilsen", "Munche", "Bock", "Export" (CEREDA, FILHO, 2001). Além das leveduras utilizadas, o que classifica a cerveja, é a concentração de extrato aparente, cor, amargor, álcool e aromas oriundos da própria fermentação ou dos lúpulos aromáticos utilizados.

A seguir são descritos alguns dos estilos de cerveja mais consumidos:

3.4.1 Pilsen

A Pilsen é o tipo de cerveja mais conhecido e consumido pelos apreciadores da bebida, pode-se afirmar que as cervejas claras são derivações da Pilsen original. Este tipo de cerveja recebeu seu nome pois teve início na cidade de Pilsen, República Tcheca no ano de 1842. A Pilsen foi caracterizada por obter uma cor dourada e brilhante, anteriormente, todas as cervejas eram escuras ou turvas (CEREDA E FILHO, 2001)

A Pilsen apresenta extrato primitivo de 12%. É fabricada com água mole, resultando em sua característica cor clara e corpo leve a médio. Inicialmente a cerveja Pilsen original, conhecida como “Pilsen Urquell” era produzida com malte próprio e lúpulo Boêmio na forma de inflorescência, sendo que a fermentação e maturação eram realizadas em cubas de carvalho e continham diacetil como característica. Nos dias de hoje, no Brasil, é considerado um defeito crasso de má fermentação (CEREDA, FILHO, 2001).

3.4.2 Wiessbier ou Weizenbier

A Wiessbier é caracterizada pela sua turbidez elevada e coloração dourado claro para o bronze escuro. É fabricada com malte de trigo (50 a 60%), utilizando leveduras específicas de alta fermentação, que devido a liberação de compostos fenólicos apresenta aroma característico de cravo-da-índia e baunilha, podendo ainda apresentar sabor frutado. A maturação é iniciada em temperaturas mais quentes (4-5 dias) e termina em armazenamento com baixas temperaturas (1-2 semanas). Além disso a Wiessbier apresenta teor de extrato original entre 12,0 a 13,5% e teor alcóolico de 5,0 a 5,6% em volume (CEREDA; FILHO, 2001).

3.4.3 Pale Ale

A primeira Pale Ale foi produzida por Hodgson, um cervejeiro de Londres, em meados de 1750, mas este tipo de cerveja tornou-se especialmente associado à cidade de Burton. Essa cidade é uma tradicional produtora de cerveja desde o século XIII, mas foi apenas por volta de 1800 que suas Pale Ale alcançaram grande fama.

A Pale Ale clássica apresenta teor de extrato original entre 11,2 e 13,6%, uma coloração de cobre e um acentuado sabor frutado. Pode ser filtrada ou não; quando

não é filtrada apresenta uma turbidez elevada. Algumas Pale Ales podem ser armazenadas na temperatura de 12-14°C por 2 a 4 semanas utilizando um processo similar a maturação. A utilização de água rica em sulfato de cálcio contribui para um sabor caracteristicamente forte a esse tipo de cerveja (CEREDA, FILHO, 2001).

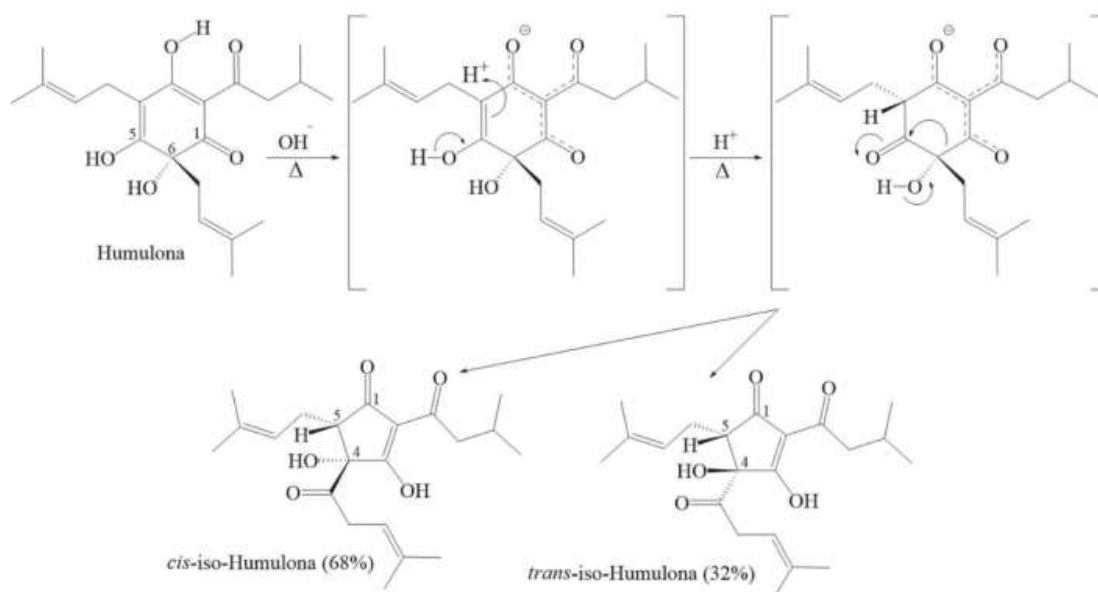
Dentro desse subgrupo, encontra-se grande variedade de cervejas com características distintas. Uma delas é a India Pale Ale (IPA), este estilo foi desenvolvido devido a necessidade dos transportes das Índias, que viajavam de pôr dias de barco, no sol em condições insalubres. Com isso veio a necessidade de utilizar mais lúpulos para ter mais estabilidade microbiológica e suportar as horas excessivas das viagens para outros continentes. Cujo o amargor será analisado neste trabalho.

4 AMARGOR

O amargor da cerveja é proveniente dos compostos alfa-ácidos presentes nas glândulas das flores fêmeas do lúpulo (maltes escuros também podem contribuir para o amargor da cerveja). Os alfa-ácidos constituem de 3 a 15% do lúpulo, dependendo da proporção das variedades da planta (KEUKELEIRE, 2000).

O lúpulo de amargor é adicionado na fervura do mosto onde os alfa-ácidos são isomerizados transformando sua estrutura molecular em iso-alfa-ácidos. Isso ocorre devido à contração do anel-aromático aumentando sua solubilidade no mosto da cerveja, como pode ser visto na Figura 3. Com o aumento da concentração de iso-alfa-ácidos ocorre o aumento do amargor.

Figura 3 - Isomerização dos alfa-ácidos (Humulona) em iso-alfa-ácidos (iso-Humulona), produzindo compostos cis e trans



Fonte: Malowicki; Shellhammer (2005)

Considerando a posição espacial do álcool terciário C (4) e a cadeia lateral pernil (3-metil-but-2-en-1-il) localizada no C (5), as moléculas originadas de cada alfa-ácido podem ter formas *cis* ou *trans*. Normalmente, no mosto encontram-se 68% do composto *cis*-iso-alfa-ácido, dependendo das condições de reação (DE KEUKELEIRE, 2000; VERZELE, 1986).

Além disso, a cerveja pode apresentar amargor diferente para uma mesma concentração de iso-alfa-ácidos. Isso pode ocorrer devido a diferentes concentrações de isômeros *cis* e *trans* (TECHAKRIENGKRAIL, 2004).

Os beta-ácidos, também presentes no lúpulo, são pouco solúveis, portanto, não interferem significativamente no amargor da cerveja, porém possuem função antimicrobianas e antioxidantes.

É comercializado como lúpulo de amargor, lúpulo de aroma e lúpulo de amargor e aroma (duplo propósito). Os lúpulos de amargor são ricos em alfa-ácidos e pobres em óleos essenciais. Os lúpulos utilizados para aroma são ricos em óleos essenciais e pobres em alfa-ácidos e são adicionados no final da fervura. Os lúpulos utilizados

tanto para amargor como para aroma possuem alta quantidade de alfa-ácidos e óleos essenciais (VERZELE; KEUKELEIRE, 1991; JASKULA et al., 2008).

A percepção do amargor pode ser diferente para cada pessoa, pois está relacionado com a percepção e a memória sensorial. Além disso, os açúcares fermentescíveis e não fermentescíveis provenientes do malte balanceiam a intensidade de percepção do amargor. Portanto, é comumente utilizado o método de determinação International Bitterness Units (IBU) que apresenta a concentração de iso-alfa-ácidos, provenientes da isomerização dos alfa-ácidos. É possível determinar a concentração de iso-alfa-ácidos (após sua extração por solventes) por técnicas de espectrofotometria UV-Vis ou cromatografia líquida (DA SILVA et al., 2008).

4.1 Técnicas para determinação de amargor

O amargor das bebidas é mensurado em Unidades Internacionais de Amargor (IBU), variando geralmente de 10 a 45 unidades. Quanto maior o valor do IBU, mais amarga é a bebida. Essa medida é obtida através da quantificação dos α -ácidos presentes, utilizando técnicas espectrofotométricas, após a extração dos ácidos por solventes. A concentração dos α -ácidos é expressa em International Bitterness Units (SILVA; FARIA, 2008).

Um dos métodos mais tradicionais para essa extração é o uso de iso-octano em amostras acidificadas, seguido pela medição espectrofotométrica a um comprimento de onda de 275 nm. Apesar de ser um método caro e demorado, é amplamente utilizado. Outra técnica que pode ser empregada é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), porém o longo tempo de análise e sua complexidade, dificultam a aplicação em produção contínua. A espectroscopia de fluorescência é uma outra técnica utilizada, sendo não destrutiva e permitindo uma determinação rápida do amargor. No entanto, ainda há pouca informação disponível sobre valores de referência para a calibração dos equipamentos de medição (CHRISTENSEN; LADEFOGED; NØRGAARD, 2005).

O método padrão para estimar o amargor das cervejas consiste na medida dos iso- α -ácidos totais por técnicas espectrofotométricas, após sua extração por

solventes, expressando a concentração em Unidades de Amargor (IBU). Tanto convenções europeias quanto norte-americanas adotam essa técnica como oficial. A espectrofotometria por radiação ultravioleta é utilizada para analisar o amargor das cervejas, baseando-se no fato de que os principais compostos responsáveis pelo amargor são os iso- α -ácidos, que possuem absorção máxima na faixa de ultravioleta visível (UV-Vis) a 270 a 275 nm. Acredita-se que as medidas obtidas por esse método apresentam boa correlação com a percepção humana do amargor em cervejas dos tipos ale e lager (SILVA; FARIA, 2008).

De acordo com Junior (2016), o IBU (International Bitterness Units) é resultante principalmente da presença de alfa ácidos, além de beta ácidos e outros compostos polifenólicos originados do lúpulo.

4.2 ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis

Um espectrofotômetro é constituído por uma fonte de radiação, um monocromador, cubeta (onde se coloca a amostra) e um detector de sinal. Com o intuito de cobrir todo o intervalo de comprimento de onda, opera-se com duas lâmpadas. A primeira, usualmente uma lâmpada de tungstênio- halogênio (ou de quartzo-iodo), a segunda lâmpada é de hidrogênio ou de deutério, sendo utilizada para medidas no ultravioleta. (JEFFERY, 1992).

Com a radiação emitida pela lâmpada, seleciona-se comprimento de onda definido que constituem bandas, com largura menor que 1nm. O espectro vai de 185 a 800 nm, sendo ultravioleta de 185 a 400 nm e o espectro visível de 400 nm até 800 nm. A espectrofotometria é um método analítico baseado na absorção de luz por moléculas que passam do estado fundamental para o excitado, quando a luz é absorvida por um analito, a energia radiante do feixe de luz diminui, sendo a absorbância de luz diretamente proporcional a concentração das espécies absorventes de luz na amostra (SEVERO JUNIOR, 2007).

Quando a radiação da lâmpada atravessa a solução, os elétrons das ligações são excitados ocupando um nível superior de energia, absorvendo parte da energia que passa pela solução. A absorção depende do comprimento de onda da radiação e

da estrutura da molécula, ou seja, quando a luz incide sobre um meio homogêneo, uma parcela da luz incidente é refletida, uma outra parcela é absorvida no meio e o restante é transmitido (JEFFERY, 1992).

A relação quantitativa entre o fenômeno de absorção e o número de espécies moleculares que sofrem absorção é dada pela lei de Lambert-Beer (Equação 3) (FREITAS, 2006).

$$A = \epsilon bc$$

(Equação 3)

Onde:

A: é a absorbância (sem unidades)

ϵ : é a absortividade molar em unidades de $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

b: comprimento do caminho da amostra, ou seja, é o comprimento do caminho que a luz tem que atravessar a cubeta (em centímetros).

c: é a concentração do elemento que absorve na solução, expresso em $mol \cdot L^{-1}$.

A lei de Lambert afirma que, quando a luz monocromática incidida passa por um meio transparente, a taxa de diminuição da intensidade com a espessura do meio é proporcional à intensidade da luz. (JEFFERY, 1992)

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

As amostras de cervejas analisadas nesse trabalho foram oriundas de uma cervejaria de Londrina, que tem expandido seu portfólio de produtos, e comparadas com amostras de outras cervejarias, obtidas no mercado. Os estilos de cervejas analisadas foram: pilsen, puro malte e IPA.

As amostras foram analisadas no laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR - Câmpus Londrina).

Os materiais e reagentes utilizados foram:

- Erlenmeyer de 500 mL com tampa;
- Pipeta graduada de 10, 5 e 1 mL;
- Tubo de ensaio com tampa para agitador mecânico;
- Tubo de ensaio com tampa para centrífuga;
- Agitador Mecânico (Technical TE-165);
- Centrífuga (KASVI K14-0815C);
- Espectrofotômetro UV-Vis(SHIMADZU UV-1280);
- Cubeta de quartzo;
- Ácido Clorídrico 3,0 mol L⁻¹;
- Isooctano PA.

5.2 Método de espectrofotometria UV-Vis

As análises de determinação de iso-alfa-ácidos nas amostras, foram realizadas seguindo metodologias estabelecidas pela European Brewery Convention, EBC 9.8.

5.2.1 Preparação da amostra

Inicialmente foi transferido 200 mL da cerveja para o Erlenmeyer com tampa, onde foi realizado a decarbonatação da amostra por agitação manual. Em seguida, com auxílio de uma pipeta volumétrica, foi coletado 5 mL da amostra e transferido para um tubo de ensaio com tampa, na sequência, adicionou-se 0,5 ml de HCl 3,0 mol L⁻¹ e 10mL de iso-octano no tubo contendo a amostra (este procedimento foi realizado em triplicata para cada cerveja analisada). (Metodologia European Brewery Convention, EBC 9.8.)

Feito isso, os tubos foram colocados no agitador mecânico durante um período de 30 minutos (Figura 3). Em seguida, foi transferido para a centrífuga por 25 minutos a 240 rpm. Após a centrifugação, a amostra foi separada em duas fases, sendo a fase sobrenadante a que contém a quantidade de iso-alfa-ácidos extraído da amostra.

Figura 4: Agitador Mecânico contendo as amostras de cervejas.



Fonte: Autoria própria.

5.2.2 Curva Empírica de Amargor

Para leitura dos valores de iso- α -ácidos foi realizado a construção de uma curva empírica de amargor utilizando como referência as amostras da cervejaria. Foi utilizado o Espectrofotômetro UV-Vis da UTFPR laboratório Multiusuário. As amostras com concentrações (IBU) conhecidas de iso-alfa-ácidos foram fracionadas nas seguintes concentrações (Tabela 3,4 e 5):

Tabela 3: Dados utilizados para curva empírica de amargor da Pilsen

IBU	Abs	Iso-alfa-ácidos (mg L ⁻¹)
13,65	0,273	9
12,25	0,245	8
9,05	0,181	4
7,60	0,152	2
6,05	0,121	1

Fonte: Autoria Própria

Tabela 4: Dados utilizados para curva empírica de amargor da Puro Malte

IBU	Abs	Iso-alfa-ácidos (mg L⁻¹)
18,75	0,375	16
15,45	0,309	11
13,1	0,262	9
9,5	0,190	4
6,8	0,136	2

Fonte: Autoria Própria

Tabela 5: Dados utilizados para curva empírica de amargor da IPA

IBU	Abs	Iso-alfa-ácidos (mg L⁻¹)
42,55	0,853	42
32,55	0,651	31
23,75	0,475	21
13,85	0,277	9
11,2	0,224	7

Fonte: Autoria Própria

O valor de absorvância fornecido pelo espectrofotômetro, corresponde à fração de iso- α -ácidos extraídas pelo iso-octano. Esta fração multiplicada por 50 (coeficiente de cálculo da metodologia EBC 9.8) resulta nos valores de amargor para cada amostra expressos em IBU (JUNIOR, 2016).

5.2.3 Leitura da Amostra

Com o auxílio de uma micropipeta, foi transferido o sobrenadante da amostra para a cubeta de quartzo e realizado a leitura no espectrofotômetro UVvis (275 nm). Foi utilizado como solvente de referência o iso-octano (branco). As cervejas utilizadas para verificação do amargor foram a puro malte, pilsen e IPA. A cerveja Puro Malte e Pilsen foram compradas no supermercado. A IPA foi adquirida da cervejaria da cidade

de Londrina. Todas elas foram submetidas ao tratamento para extração do iso- α -ácidos utilizando o solvente iso-octano.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para análise do amargor utiliza-se a unidade global expressa em *Bitterness Units*, (IBU) a qual foi determinada após extração por iso-octano 2,2,4-trimetilpentano em meio ácido (HCl). O intuito do trabalho foi verificar se as cervejas disponibilizadas no mercado bem como a amostra da cervejaria de Londrina estão dentro do parâmetro de amargor. As amostras foram medidas espectrofotométrica em comprimento de onda de 275 nm seguindo metodologia descrita em European Brewery Convention, *EBC 9.8*.

A Tabela 6 apresenta os parâmetros de amargor para cada estilo de cerveja utilizado no processo de fabricação da cervejaria de Londrina.

Tabela 6 - Parâmetros de amargor

Controle de Cerveja Filtrada	Amargor (IBU)
Pilsen	6,0-7,0
Lager	7,0-9,0
Puro Malte	9,0-10,0
Ipa	25,0-30,0
Sem Álcool	12,0-14,0
Witbier	10,0-15,0

Fonte: Cervejaria de Londrina

Para realizar as medidas de IBU foram realizadas três curvas de calibração - uma para cada tipo de cerveja (Pilsen, Puro Malte e IPA). Os padrões de cada cerveja foram obtidos de amostras com concentração conhecidas da cervejaria de Londrina. Para realizar a conversão do valor de IBU para concentração de iso-alfa-ácidos em mg L⁻¹ de cerveja, foi utilizado a tabela de conversão de iso-alfa-ácidos mg L⁻¹ em unidades de amargor (Tabela 7) elaborada por L.R Bishop.

Tabela 7 = Tabela de conversão de iso-alfa-ácidos mg L⁻¹ em Unidades de Amargor

Conteúdos de Substâncias amargas (mg/L)	International Bitterness Unit (IBU)	Conteúdos de Substâncias amargas (mg/L)	International Bitterness Unit (IBU)
1	6	36	37
2	7	37	37
3	8	38	38
4	9	39	39
5	10	40	40
6	10	41	41
7	11	42	42
8	12	43	43
9	13	44	44
10	14	45	44
11	15	46	45
12	16	47	46
13	17	48	47
14	17	49	48
15	18	50	49
16	19	51	50
17	20	52	51
18	21	53	51
19	22	54	52
20	23	55	53
21	24	56	54
22	24	57	55
23	25	58	56
24	26	59	57
25	27	60	58
26	28	61	58
27	29	62	59
28	30	63	60
29	31	64	61
30	31	65	62
31	32	66	63
32	33	67	64
33	34	68	65
34	35	69	65
35	36	70	66

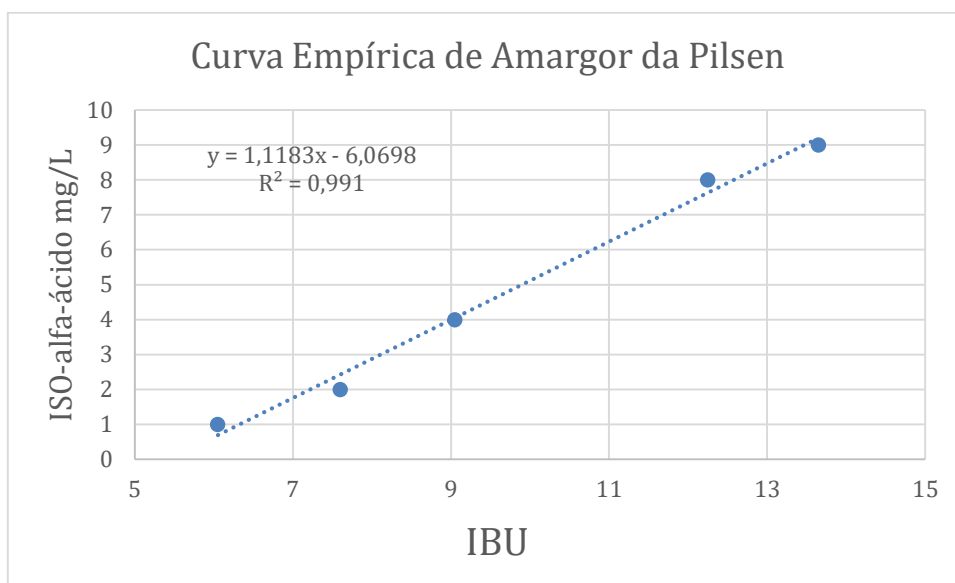
Fonte: L.R. Bishop, Brauerei 21 – modificada

Para obtenção das curvas de calibração foi realizada as conversões da unidade de intensidade de absorção em IBU e deste para a concentração de substâncias de amargor (em especial o iso-alfa-ácido).

6.1 Pilsen

Com os dados obtidos das análises da Pilsen (Tabela 3) foi possível construir uma curva empírica de amargor correlacionando a quantidade de iso-alfa-ácidos com IBU como representado na Figura 4.

Figura 4: curva de curva empírica de amargor da Pilsen

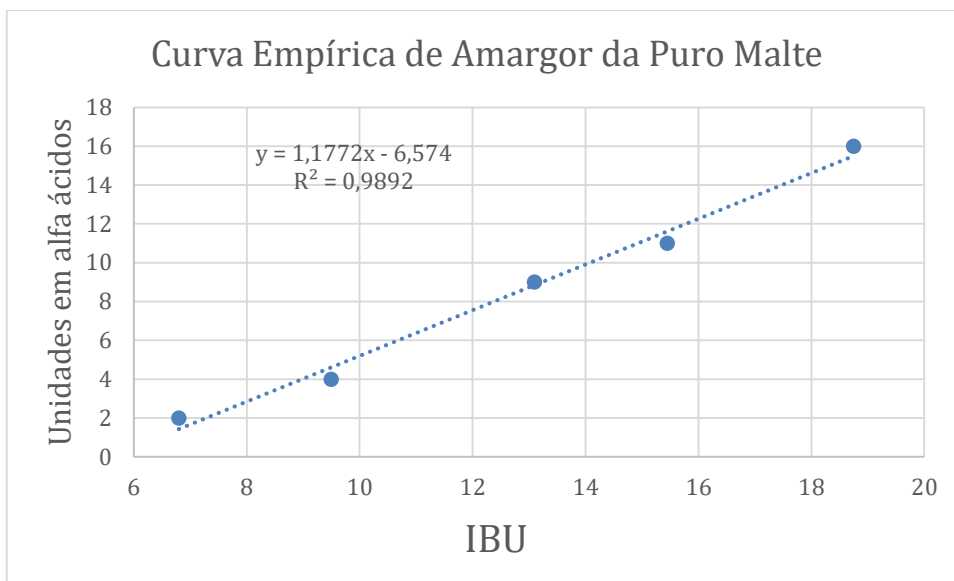


Fonte: Autoria Própria

6.2 Puro Malte

Com os dados obtidos das análises da Puro Malte (Tabela 4) foi possível construir uma curva empírica de amargor correlacionando a quantidade de iso-alfa-ácidos com IBU como representado na Figura 5.

Figura 5: Curva empírica de amargor da Puro Malte

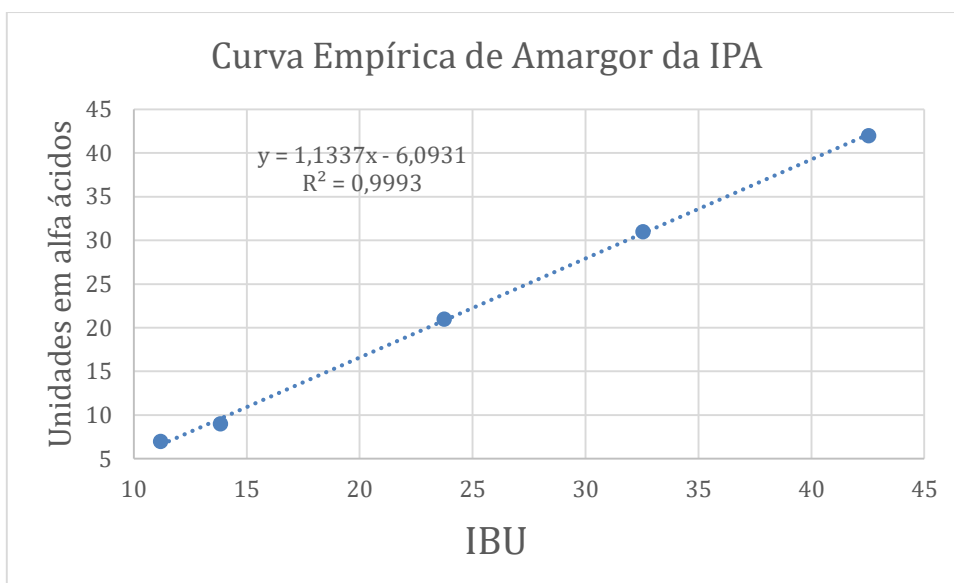


Fonte: Autoria Própria

6.3 IPA

Com os dados obtidos das análises da IPA (Tabela 5) foi possível construir uma curva empírica de amargor correlacionando a quantidade de iso-alfa-ácidos com IBU como representado na Figura 6.

Figura 6: Curva empírica de amargor da IPA



Fonte: Autoria Própria

A concentração de iso-alfa-ácido corresponde a uma relação linear em relação ao IBU nas três curvas empíricas de amargor, sendo a concentração de iso-alfa-ácido diretamente proporcional ao IBU, podendo ser representado pela regressão linear, porquanto, como indicado pelo R^2 , observa-se que se ajusta adequadamente aos dados experimentais.

A partir da curva empírica de amargor obtida foi analisado o valor de IBU das cervejas selecionadas. Para a cerveja Pilsen temos a seguinte equação da reta:

$$y = 1,1183 \text{ ibu} - 6,0698 \quad R^2 = 0,991$$

(Equação 4)

Após a cerveja Pilsen (marca 1) ser tratada de acordo com a metodologia e realizado a análise de UV-Vis obteve-se o valor de absorvância de 0,162. Esse valor corresponde a 8,1 IBU. Utilizando a equação da acima foi obtido o valor de 2,98 que corresponde a quantidade de iso-alfa-ácidos em mg L⁻¹.

Utilizando a Tabela 7 e comparando com valor de iso-alfa-ácido obtido, foi possível observar que o resultado pela equação da reta adequa-se ao valor proposto por L.R. Bishop.

Tabela 8 - Comparação dos dados de análise/ tabelado (Pilsen)

	Valor de análise	Valor de referência (Tabela 7)
IBU	8,1	8
Conteúdos de Substâncias amargas (mg/L)	2,98	3

Fonte: Autoria Própria

Para a cerveja Puro Malte temos a equação da reta:

$$y = 1,1772x - 6,574 \quad R^2 = 0,9892$$

(Equação 5)

O valor de absorvância para a cerveja Puro Malte (Marca 2) foi de 0,246. Esse Valor corresponde a 12,33 IBU. Utilizando a equação da acima foi obtido o valor de 7,94 que corresponde a quantidade de iso-alfa-ácidos em mg L-1.

Utilizando a Tabela 7 e comparando com valor de iso-alfa-ácido obtido, foi possível observar que o resultado obtido pela equação da reta adequa-se ao valor proposto por L.R. Bishop.

Tabela 9 - Comparação dos dados de análise/ tabelado (Puro Malte)

	Valor de análise	Valor de referência (Tabela 7)
IBU	12,33	12
Conteúdos de Substâncias amargas (mg/L)	7,94	8

Fonte: Autoria Própria

Para a cerveja IPA temos a equação da reta:

$$y = 1,1337x - 6,0931 \quad R^2 = 0,9993$$

(Equação 6)

O valor de absorvância para a cerveja IPA (Marca 3) foi de 0,603. Esse Valor corresponde a 30,15 IBU. Utilizando a equação da acima foi obtido o valor de 28,09 que corresponde a quantidade de iso-alfa-ácidos em mg L-1.

Utilizando a Tabela 7 e comparando com valor de iso-alfa-ácido obtido, foi possível observar, que o resultado obtido pela equação da reta adequa-se ao valor proposto por L.R. Bishop.

Tabela 10- Comparação dos dados de análise/ tabelado (IPA)

	Valor de análise	Valor de referência (Tabela 7)
IBU	30,15	30
Conteúdos de Substâncias amargas (mg/L)	28,09	28

Fonte: Autoria Própria

Outras cervejas também foram testadas e analisadas o teor de amargor.

Tabela 11 - Comparação dos dados de análise/ tabelado (Amostras da Cervejaria)

	Valor de análise		Valor de referência (Tabela 7)	
	ABS/ IBU	Substância amarga (mg L ⁻¹)	IBU	Substância amarga (mg L ⁻¹)
Pilsen (Cervejaria de Londrina)	0,273/13,65	9,2	13	9
Puro Malte (Cervejaria de Londrina)	0,375/18,75	15,5	19	16
IPA (Cervejaria de Londrina)	0,851/42,55	42,14	42	42

Fonte: Autoria Própria

Portanto, foi possível verificar, utilizando o método EBC 9.8 e a curva empírica de amargor, que as 3 marcas e estilos de cervejas analisadas adequam-se ao IBU fornecido por cada fabricante (Tabela 12)

7 CONCLUSÃO

Os resultados das análises utilizando as curvas empíricas de amargor realizadas nestas amostras foram satisfatórias, pois a concentração de iso-alfa-ácidos

corresponde a uma relação linear em relação ao IBU. Assim os resultados foram satisfatórios quando comparadas a tabela de referência. Isso indica que a concentração de alfa-ácido é diretamente proporcional ao IBU e se ajusta muito bem aos dados experimentais.

Tabela 12 – Comparação do IBU com a especificação de cada empresa.

	IBU	IBU (Padrão estipulado)
Marca 1 (Pilsen)	8,1	8,0
Marca 2 (Puro Malte)	12,33	11,0
Marca 3 (IPA)	30,15	30,0

Fonte: Autoria Própria

A Tabela 12 apresenta os valores de IBU que foram encontrados utilizando as curvas empíricas de amargor com o padrão estipulado de cada cervejaria analisada. Os resultados de amargor das amostras de outras cervejarias quando inseridas na curva empírica de amargor é semelhante ao cálculo do método EBC 9.8. Além disso, se enquadram no padrão estipulado pelas próprias cervejarias (Tabela 15).

Os cálculos realizados para determinar o amargor de cervejas, apresentaram uma aproximação satisfatória. Tanto a faixa de IBU quanto ao amargor fornecido nos rótulos das cervejas analisadas. Entretanto, os resultados apresentaram divergências quanto aos valores de amargor padrão da cervejaria. Isso pode ter ocorrido por diversos fatores, como o tratamento das amostras e calibração do equipamento. Contudo, todas as amostras analisadas, ficaram dentro da faixa especificada pelo Beer Judge Certification Program e mostra que o método do European Brewery Convention (EBC 9.8) é eficaz.

REFERÊNCIAS

- CEREDA, M. P.; FILHO, W. G. V. Cerveja. *In: AQUARONE, Eugênio; et all. **Biotecnologia Industrial**: Biotecnologia na produção de alimentos. São Paulo. Edgar Blucher, 2001. v.4, cap. 4, p. 91-144.*
- CEREDA, M. P. Cervejas. *In: AQUARONE et al. **Biotecnologia alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgar Blücher, 1983. Cap. 3, p. 46.*
- COELHO NETO, D. M.; FERREIRA, L. L. P.; SAD, C. M. S.; CASTRO, E. V. R.; BORGES, W. S.; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA Jr, V. Conceitos químicos envolvidos na produção da cerveja: uma revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 1, p. 120-147, 2020.
- COGUE, S., et al. **Impacto f Dark Specialty Malts on Extract Composition and Wort Fermentation. Journal of the Institute of Brewing. 111(1):51-60,2005.**
- DA SILVA, P. H. A.; FARIA, F. C. **Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais.** Bitterness Units and iso alfa-acids contents of some brands of Brazilian and North American beers. *Ciência e tecnologia de alimentos*, pg. 902-906, outubro/dezembro, Campinas, Brasil, 2008.
- DE KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 108-112, 2000.
- DRAGONE, G.; SILVA, J. B. A. Cerveja. *In: FILHO, Waldemar G. V. **Bebidas Alcoólicas**: Ciência e Tecnologia. São Paulo. Edgar Blucher, 2010. v.1, cap. 2, p. 15-50*
- DRAGONE, G.; SILVA, J. B. A.; SILVA, Tassianá A. O. Cerveja. *In: FILHO, Waldemar G. V. **Bebidas Alcoólicas**: Ciência e Tecnologia. São Paulo. Edgar Blucher, 2016. v.1, 2ªed., cap.3, p.51-84.*
- EBC Analytica, 9.8 – **Bitterness of Beer (IM)**, 2020 Disponível em: <https://brewup.eu/ebc-analytica/beer/bitterness-of-beer-im/9.8>. Acesso em: 02 jun. 2023.

JASKULA, B.; KAFARSKI, P.; AERTS, G.; COOMAN, L. A kinetic study on the isomerization of hop α -acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 15, p. 6408-6415, 2008.

MALOWICKI, M. G.; SHELLHAMMER T. H.; Isomerization and Degradation Kinetics of Hop (*Humulus lupulus*) Acids in a Model Wort-Boiling System. **J. Agric. Food Chem**, v. 53, p. 4434-4439, 2005.

PALMER, J. J.; KAMINSKI, C. **Water : a comprehensive guide for brewers**. Brewers Association, 1963.

PIMENTA, L.; et al. **A história e o processo da produção da cerveja: uma revisão**. Cadernos de Ciência & Tecnologia. v.37, n.3, 2020.

PORTARIA GM/MS Nº 888, DE 4 DE MAIO DE 2021

SEVERO, M. I. G.; BARBIER, F.; OLIVEIRA, A. H.; LOUSTALOT, M. F. G.; CARNEIRO, C. G.; SILVA, M. R. S. INAA and ICP-MS **Methods for Biological Tissues Studies**. Revista de Física Aplicada e Instrumentação, v. 17, n. 3, p. 110-115, 2004.

SILVA, J. B. A. Cerveja. *In*: FILHO, Waldemar G. V. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo. Edgar Blucher, 2005. cap. 15, p 347-382.

SILVA, P.; FARIA, F.. **Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais**. Ciência e Tecnologia em Alimentos. v.28, n. 5, p. 902-906, 2009

TECHAKRIENGKRAIL, I. et al. **Relationships of sensory bitterness in lager beers to iso- α -acid contents**. Journal of the Institute of Brewing, v. 110, n. 1, p. 51-56, 2004.

VERZELE, M. Centenary review: **100 years of hop chemistry and its relevance to brewing**. Journal of the Institute of Brewing, v. 92, p. 32-48, 1986.

VERZELE, M.; DE KEUKELEIRE, D. **Chemistry and analysis of hop and beer bitter acids**. Amsterdam: Elsevier. v. 22, p. 413-417, 1991

VOGEL, Arthur Israel; JEFFERY, G. H. [et Al.] *et al.* **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 1992.