

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PPGTA – PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS
NÍVEL MESTRADO ACADÊMICO**

ANDRÉ DA SILVA CASTILHOS DE MELO

**AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE LÚPULOS COMO
CLARIFICADORES DE CERVEJA**

**CAMPO MOURÃO
2020**

ANDRÉ DA SILVA CASTILHOS DE MELO

**AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE LÚPULOS COMO
CLARIFICADORES DE CERVEJA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós
Graduação em Tecnologia de Alimentos da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

**CAMPO MOURÃO
2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Melo, André da Silva Castilhos

Avaliação de extratos de resíduos de lúpulos como clarificadores de cerveja / André da Silva Castilhos Melo. – Campo Mourão, 2020.
1 arquivo de texto (59 f) : PDF ; 1,6 MB.

Orientador: Paulo Henrique Março
Coorientador: Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo
Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Campo Mourão, 2020.
Inclui bibliografia: f. 49-54

1. Cerveja. 2. Cerveja – Sabor e aroma. 3. Tecnologia de Alimentos – Dissertações. I. Março, Paulo Henrique, orient. II. Plata Oviedo, Manuel Salvador Vicente, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

CDD 664

Biblioteca da UTFPR - Câmpus Campo Mourão

Bibliotecária/Documentalista:
Andréia Del Conte de Paiva – CRB-9/1525



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE LÚPULOS COMO CLARIFICADORES DE CERVEJA

Por:

ANDRÉ DA SILVA CASTILHOS DE MELO

Essa dissertação foi apresentada às 14 horas, do dia 29 de maio de 2020, como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Paulo Henrique Março (orientador)

Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo (coorientador)

Prof. Dr. José Hilton Bernardino de Araujo

Prof. Dr. Stanislaw Bogusz Jr

Dedico este trabalho à minha família, em especial a minha filha Lívia e a minha esposa Mara Rubia pelo amor e compreensão em todos os momentos da minha vida!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelas oportunidades que frequentemente se manifestam em minha vida e por sempre me dar a força, dedicação e sabedoria para aproveitá-las e colher os seus frutos.

Agradeço a toda minha família, em especial a minha esposa Mara Rubia por todo incentivo, apoio, paciência, compreensão e principalmente pelo amor dedicado a mim.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Março e ao Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo pela orientação e coorientação, confiança, incentivo e pelos conhecimentos transmitidos a mim.

Agradeço a UTFPR Campo Mourão, aos professores e toda coordenação do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos.

Aos membros da banca pela disposição e participação e a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

MELO, André da Silva Castilhos. **Avaliação de Extratos de Resíduos de Lúpulos Como Clarificadores de Cerveja**. 2020. 59 folhas. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2020.

A cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, na qual o excesso de turbidez e a presença de sedimentos são considerados defeitos que comprometem a qualidade da bebida. Uma maneira de minimizar a turbidez é a adição de agentes clarificantes, os quais atuam no material de turvação (proteínas e polifenóis). Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o poder clarificante de extratos hidroalcoólicos de resíduos de lúpulos americanos obtidos do processo chamado de “*dry hopping*” como clarificadores pós fermentação na fabricação de cerveja. Foram quantificadas as proantocianidinas dos resíduos de lúpulos Citra, Ekuanot, Mosaic e Amarillo utilizando solvente etanol/água em diferentes proporções (96, 75, 50 e 25% v/v). Para avaliação dos clarificadores, produziu-se uma cerveja de denominação “*American Pale Ale*” para a qual, no nono dia de maturação/guarda a frio, foram adicionados os agentes clarificantes comerciais, goma carragena (Whirlfloc ®G), gelatina e sol de sílica gel (Spindasol ®SB3), além de extratos dos lúpulos em concentração de 3,49 miligramas de proantocianidinas por litro de cerveja. Para avaliar o efeito de clarificação, as amostras de cervejas foram submetidas às análises de teor de proteínas, compostos fenólicos totais, claridade e turbidez. A proporção 50/50% (v/v) de solvente etanol/água foi a concentração que resultou na maior extração de proantocianidinas, alcançando concentrações de 107,06; 364,52; 273,39 e 335,21 mg/L, para os lúpulos Amarillo, Citra, Mosaic e Ekuanot, respectivamente. Após a fermentação, a cerveja apresentou 898,16 mg de proteínas e 502 mg de compostos fenólicos totais por litro de cerveja. Na avaliação da cerveja na etapa de maturação/guarda a frio, após 5 dias da adição e ação dos extratos de lúpulos, observou-se diminuição nos teores de proteínas e de compostos fenólicos totais. No entanto, a intensidade da diminuição variou em função do tipo de lúpulo, sendo o extrato Citra o de melhor desempenho. Os agentes clarificantes, gelatina, extrato de resíduo de lúpulo Citra e o sol de sílica gel apresentaram os menores valores de turbidez (inferiores a 6 unidades EBC - European Brewery Convention) após o teste de estabilidade. Na avaliação sensorial da cerveja clarificada com extrato de lúpulo Citra, os provadores relataram uma cerveja límpida e brilhante, dentro dos padrões para o estilo “*American Pale Ale*”. Desta forma, dada a eficiência, sugere-se o extrato de lúpulo Citra como uma alternativa clarificante para ser utilizado na remoção de proteínas e polifenóis na etapa de maturação/guarda a frio.

Palavras chave: Cerveja, turbidez, proantocianidinas, extrato de resíduo de lúpulo Citra, clarificante.

ABSTRACT

MELO, André da Silva Castilhos. **Evaluation of Hop Residue Extracts as Beer Clarifiers**. 2020. 59 pages. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Federal Technology University Paraná. Campo Mourão, 2020.

Beer is the beverage resulting from fermentation, from brewer's yeast, from malted barley or malt extract, previously submitted to a cooking process added with hops or hops extract, in which excess of turbidity and the presence of sediment are considered defects that compromise the quality of the drink. One way to minimize turbidity is the addition of clarifying agents, which act on the turbidity material (proteins and polyphenols). Thus, this work aimed to evaluate the clarifying power of hydroalcoholic extracts of american hops residues obtained from the process called "dry-hopping" as post-fermentation clarifiers in beer manufacturing. The proanthocyanidins from hops residues Citra, Ekuanot, Mosaic and Amarillo were quantified using ethanol/water solvent in different proportions (96, 75, 50 and 25% v/v). For the evaluation of clarifiers, a beer called "American Pale Ale" was produced to which, on the ninth day of maturation/cold storage, commercial clarifying agents, carrageenan gum (Whirlfloc®G), gelatin and silica gel (Spindasol®SB3), in addition to hops extracts in a concentration of 3,49 milligrams of proanthocyanidins per liter of beer. To evaluate the clarification effect, the beer samples were subjected to analysis of protein content, total phenolic compounds, clarity, and turbidity. The 50/50% (v/v) ratio of ethanol/water solvent was the concentration that resulted in the greatest extraction of proanthocyanidins, reaching concentrations of 107,06; 364,52; 273,39 and 335,21 mg/L, for Amarillo, Citra, Mosaic, and Ekuanot hops, respectively. After fermentation, the beer had 898,16 mg of proteins and 502 mg of total phenolic compounds per liter of beer. In the evaluation of beer in the stage of maturation/cold storage, after 5 days of the addition and action of hops extracts, a decrease in the levels of proteins and total phenolic compounds was observed. However, the intensity of the decrease varied depending on the type of hops, with Citra extract being the best performer. The clarifying agents, gelatin, Citra hops residue extract and the silica gel sol showed the lowest turbidity values (less than 6 EBC units - European Brewery Convention) after the stability test. In the sensory evaluation of clarified beer with Citra hops extract, the tasters reported a clear and shiny beer, within the standards for the "American Pale Ale" style. Thus, given the efficiency, Citra hops extract is suggested as a clarifying alternative to be used in the removal of proteins and polyphenols in the maturation/cold storage stage.

Keywords: Beer, turbidity, proanthocyanidins, citra hops residue extract, clarifying.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural das proantocianidinas - tanino condensado.....	16
Figura 2 - Configuração das proantocianidinas	17
Figura 3 - Fluxograma do processo de fabricação de cerveja.....	21
Figura 4 - Quantificação de proteínas pelo método de Bradford (mg proteína/L) nas cervejas adicionadas de extratos de resíduos de lúpulos e clarificantes comerciais.....	38
Figura 5 - Quantificação dos compostos fenólicos totais (CFT) (mg equivalentes ácido gálico/L) nas cervejas adicionadas de extratos de resíduos de lúpulos e clarificantes comerciais.	40
Figura 6 - Absorbância a 600 nm para avaliação da claridade das cervejas adicionadas de extratos de lúpulos e dos clarificantes goma carragena, sol de sílica spindasol, gelatina e da amostra sem adição de extratos/agentes clarificantes	42
Figura 7 - Turbidez nos extratos de lúpulos (amarillo, citra, mosaic e ekuanot), e dos clarificantes goma carragena, sol de sílica spindasol, gelatina e da amostra sem adição de extratos/agentes clarificantes convertida para escala (EBC) European Brewing Convent.	43
Figura 8 - Correlação entre a claridade determinada em espectrofotômetro a 600 nm e a turbidez determinada com turbidímetro nefelométrico.....	44
Figura 9 - Teste Preditivo de Vida de Prateleira.....	45
Figura 10 - Amostras de Cerveja sem adição de clarificantes (esquerda) e com adição de extrato de resíduo de lúpulo Citra (direita).	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do lúpulo em flor	20
Tabela 2 - Clarificantes, cargas e precipitação.....	26
Tabela 3 - Concentração de proantocianidinas (mg equivalentes de catequina/L) dos extratos dos resíduos de lúpulos extraídos com diferentes concentrações de etanol aquoso.	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS -	Absorbância
BJCP -	Beer Judge Certification Program
CFT -	Compostos fenólicos totais
<i>Dryhopping</i> -	Adição de lúpulo na maturação em temperaturas inferiores a 18°C
EAG -	Equivalentes ácido gálico
EBC -	European Brewing Convention
EC -	Equivalente de catequina
Na ₂ CO ₃ -	Carbonato de Sódio
R ² ajustado -	Coefficiente de determinação ajustado
TRUB -	Micropartículas que se formam em processos diferentes da produção de cerveja
v/v -	Volume por volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICOS	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	PROANTOCIANIDINAS	15
3.2	MATÉRIAS PRIMAS CERVEJEIRAS	18
3.2.1	Água	18
3.2.2	Malte	19
3.2.3	Lúpulo	19
3.2.4	Levedura	20
3.3	PROCESSO DE PRODUÇÃO INDUSTRIAL DA CERVEJA	21
3.3.1	Moagem do Malte	22
3.3.2	Mosturação	22
3.3.3	Filtração do Mosto	23
3.3.4	Fervura	23
3.3.5	Resfriamento	24
3.3.6	Fermentação	24
3.3.7	Maturação	25
3.3.8	Clarificação	25
3.4	AGENTES CLARIFICANTES	26
3.4.1	Carragena	27
3.4.2	Gelatina	27
3.4.3	Sol de Sílica Gel	28
3.5	ESTABILIDADE DA CERVEJA	28
3.6	RESÍDUOS DO PROCESSO CERVEJEIRO	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1	MATERIAL	30
4.2	MÉTODOS	30
4.2.1	Preparo do Extrato de Lúpulo	30
4.2.2	Quantificação de Proantocianidinas	31
4.2.3	Produção da Cerveja	31
4.2.4	Determinação de Compostos Fenólicos Totais	33
4.2.5	Determinação da Claridade e Turbidez	33
4.2.6	Determinação de Proteínas Totais	34
4.2.7	Teste Preditivo de Vida de Prateleira: Avaliação da Estabilidade Coloidal	34
4.2.8	Análise Sensorial	34
4.2.9	Análise Estatística	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	EXTRAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS NOS EXTRATOS DE RESÍDUOS DE LÚPULOS	36
5.2	EXTRATOS DE RESÍDUOS DE LÚPULOS COMO CLARIFICADORES PÓS FERMENTAÇÃO	37
5.2.1	Quantificação de Proteínas	37
5.2.2	Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais	40
5.2.3	Claridade da Cerveja	41
5.2.4	Turbidez da Cerveja	42
5.2.5	Correlação Entre Métodos de Claridade e Turbidez	44
5.3	ESTABILIDADE COLOIDAL PELO TESTE PREDITIVO DE VIDA DE PRATELEIRA	45
5.4	ANÁLISE SENSORIAL	46
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49
	ANEXOS	55

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Instrução Normativa Nº 65 de 2019, cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro (BRASIL, 2019).

O mercado brasileiro de cervejas cresceu significativamente nos últimos anos e continua em desenvolvimento, gerando diversos tipos de oportunidade aos que desejam empreender na área, de acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em 2017 foram mais de 8.903 tipos de produtos registrados e 679 cervejarias legalizadas, o Brasil é o 3º maior produtor de cervejas do mundo (14 bilhões de litros/ano) relata o Instituto da Cerveja Brasil (ICB, 2017).

O lúpulo como ingrediente na produção de cerveja confere aroma, amargor e estabilidade coloidal à espuma, além de atuar como antioxidante e antimicrobiano protegendo a cerveja de processos oxidativos e de contaminações microbiológicas, Segundo Durello et al., (2019) Os monômeros de flavan-3-óis mais comumente encontrados no lúpulo em concentrações de 0,03-0,30%, são a catequina e a epicatequina. Estes compostos podem formar oligômeros ou polímeros que são denominados de proantocianidinas (0,20-1,30%) ou taninos condensados (< 2%). No lúpulo, os taninos condensados mais comuns são os derivados da catequina e da epicatequina.

Como primeira impressão sobre o produto, a qualidade visual se destaca, então a cerveja deve ser, geralmente límpida, em alguns casos ligeiramente turva (cervejas de trigo), porém sem deposição de sedimentos no fundo das embalagens. Excesso de turbidez e sedimentos são defeitos que podem trazer ao consumidor a impressão de que o produto possa estar estragado (AQUARONE et. al., 2001).

Para se obter uma cerveja límpida e estável durante todo o período de validade proposto, em geral, deve-se lançar mão de técnicas de clarificação a fim de eliminar material de turvação e suscetível a sedimentar. Dentre as técnicas de clarificação, podem ser destacadas quatro, aplicadas separadamente ou

combinadas, que são: a sedimentação, o uso de agentes clarificantes, a centrifugação e a filtração (EATON, 2006).

Uma maneira de evitar a turbidez são utilizados aditivos estabilizantes ou agentes clarificantes, que são adicionados na cerveja e removem os polifenóis, ou as proteínas, ou até mesmo o complexo formado entre polifenóis e proteínas (AQUARONE et al., 2001).

Após fermentação o principal fator precursor da turbidez da cerveja é a fração proteica prolamina. Jelinek et al., (2014) e Linforth et al., (2015) relatam a floculação de proteínas ao adicionar na cerveja no estágio de maturação, extrato hidro alcoólico do lúpulo in natura (Saaz) ou de extratos obtidos do resíduo dos lúpulos Galena e Saaz procedentes da fabricação de concentrados de alfa ácidos obtidos por extração com CO₂.

Na fabricação da cerveja a adição do lúpulo pode ser feita na etapa de fervura e maturação realizada a temperaturas baixas (inferiores a 18°C), conhecida como *dry hopping*. O presente trabalho tem como finalidade avaliar o uso de extratos hidro alcoólicos obtidos de resíduos de lúpulos (Mosaic, Ekuanot, Citra e Amarillo) como agentes clarificadores a serem utilizados na etapa de maturação da cerveja. Os indicadores do processo de clarificação serão determinados através da claridade da cerveja, teores de proteínas e compostos fenólicos totais. A escolha do resíduo do lúpulo para obtenção dos extratos está baseada na maior concentração de compostos fenólicos entre eles de proantocianidinas que tem a capacidade de complexar-se com as proteínas e de interagir com as leveduras. (Rodrigues et al., 2013; Linforth et al., 2015). O aumento da claridade e diminuição dos teores de proteínas e de compostos fenólicos serão considerados como consequências da ação clarificante dos extratos de lúpulos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ação clarificadora de extratos hidro alcoólicos de resíduos de lúpulos americanos, obtidos do processo de *dry hopping* após fermentação, na fabricação da cerveja.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Obtenção dos extratos hidro alcoólicos a partir dos lúpulos mosaic, ekuanot, citra e amarillo e quantificação dos teores de proantocianidinas pelo método de vanilina.
- Avaliar a capacidade clarificante dos extratos hidro alcoólicos através da:
 - Determinação da claridade em absorbância de 600 nm.
 - Determinação da turbidez pelo método nefelométrico.
 - Determinação de proteínas totais pelo método de Bradford.
 - Determinação de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu
- Comparar a capacidade clarificante dos extratos obtidos de lúpulos com gelatina, sol de sílica gel (Spindasol ®SB3) e goma carragena (Wirfloc ®G).
- Avaliar a estabilidade coloidal da cerveja clarificada com os extratos de lúpulos.
- Avaliar sensorialmente a cerveja contendo o clarificante de melhor desempenho.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PROANTOCIANIDINAS

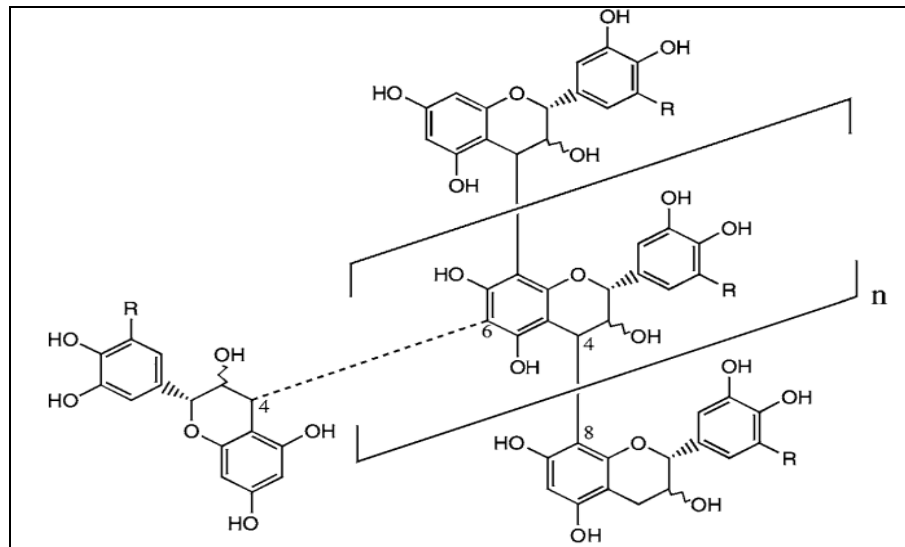
Os compostos fenólicos constituem uma das principais classes de metabólitos secundários nos vegetais, atualmente mais de 10.000 estruturas de compostos fenólicos são conhecidas, desde moléculas simples até as estruturas altamente polimerizadas, como os taninos e as ligninas. Os taninos são compostos fenólicos poliméricos com peso molecular entre 500 e 3.000 Daltons que estão amplamente distribuídos em quase todos os alimentos de origem vegetal. De acordo com sua estrutura química podem ser classificados em três subgrupos: proantocianidinas, taninos hidrolisáveis e taninos complexos (SERRANO et al., 2009).

Como as proantocianidinas estão presentes em muitas espécies de plantas, elas também estão presentes em muitos alimentos e bebidas (Es-Safi et al., 2006).

A cevada e o lúpulo são fontes de proantocianidinas e passam a ser componentes naturais nas cervejas. Sua presença em alimentos e bebidas promove proteção contra doenças cardiovasculares, distúrbios imunológicos e doenças neurodegenerativas (STEVENS et al., 2002).

As proantocianidinas, também denominadas taninos condensados, são oligômeros e polímeros de flavonoides monoméricos (BEECHER, 2004). Correspondem a cadeias formadas por diferentes números de unidades flavonoides ligados por ligações C4 - C8 ou C4 - C6 (SILVA et. al., 1991). Conforme a Figura 1, os flavonóides têm uma família complexa composta por diferentes formas isoméricas de catequina e seus polímeros.

Figura 1 - Fórmula estrutural das proantocianidinas - tanino condensado.

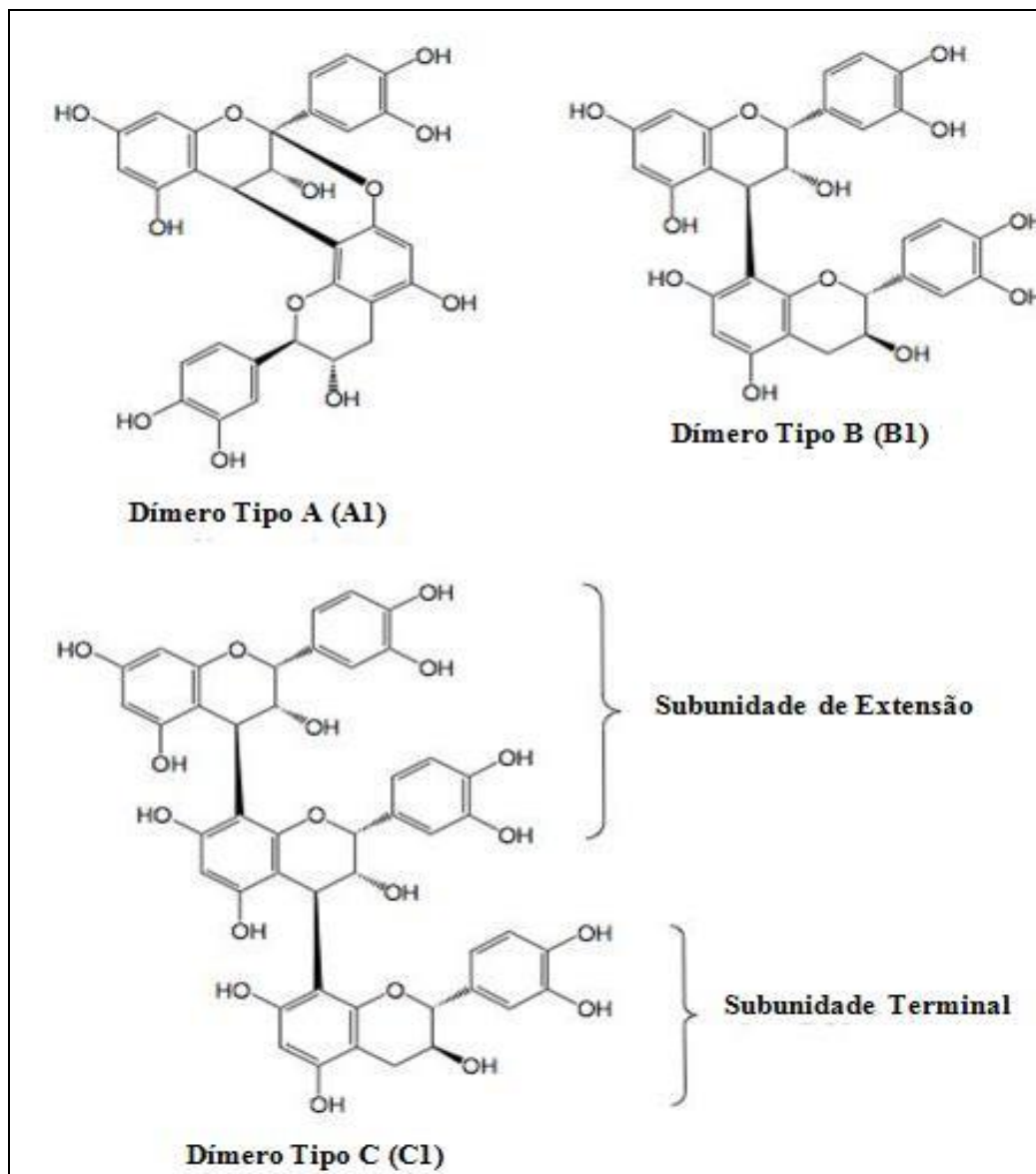


Fonte: Vital et al., (2004,p.572).

A estrutura básica da catequina possui dois carbonos assimétricos, pelo que existem 4 isômeros: (+) / (-) catequina e epicatequina. Além disso, o anel aromático externo pode apresentar um terceiro grupo OH, dando origem ao correspondente (+) / (-) galocatequina e epigalocatequina. Por outro lado, o grupo OH na posição 3 do heterociclo pode ser galolado, ou seja, pode ser esterificado com uma molécula de ácido gálico, de modo que os 3 galatos de (+) / (-) (galo) também possam ser incluídos catequina e epi (galo) catequina.

As procianidinas do tipo B são constituídas por monômeros interligados entre si, através de uma ligação entre a posição C4 da unidade superior e a posição C6 ou C8 da unidade terminal. Os isômeros C4-C8 são mais abundantes que os C4-C6 e adotam frequentemente a forma estereoquímica 3,4 – trans. As procianidinas do tipo A, são constituídas por monómeros de flavan-3-ol e estabelecem uma ligação do tipo éter, na posição C2 da unidade superior e o grupo hidroxilo na posição C5 ou C7 da unidade inferior (Tarascou et al., 2011). Demonstrado na Figura 2, a combinação das variadas ligações resulta na diversidade da estrutura dimensional deste grupo de moléculas.

Figura 2 - Configuração das proantocianidinas



Fonte: Wallace (2010,p.29).

Uma definição mais precisa e muito empregada atualmente para taninos foi dada por Haslam (1989), segundo qual o termo designa os metabólitos secundários de natureza polifenólica extraídos de plantas, taninos vegetais, que foram classificados em dois grupos: as proantocianidinas, que são os taninos condensados, responsáveis pelas características normalmente atribuídas a estas substâncias, como adstringência, precipitação de proteínas, etc., e os taninos

hidrolisáveis, que são ésteres do ácido gálico e seus dímeros (ácido digálico ou hexaidroxidifênico e elágico) com monossacarídeos, principalmente a glucose.

3.2 MATÉRIAS PRIMAS CERVEJEIRAS

As matérias-primas essenciais para a fabricação da cerveja são: água, malte, levedura e lúpulo. Porém, outros componentes denominados adjuntos podem ser utilizados.

3.2.1 Água

A água para produção de cerveja deve ser livre de impurezas, filtrada, sem cloro, sabor e cheiro, inócua, livre de contaminações, para servir de nutriente para as leveduras fermentativas (REBELLO, 2009).

Em quantidade, a água é o principal componente da cerveja e suas propriedades são um dos fatores mais significativos na qualidade final do produto. A atual disposição tecnológica favorece a possibilidade do uso de água com teor de pureza e sais minerais adequados a produção de cerveja (ANDRADE; MEGA; NEVES, 2011).

Além disso, a água deve apresentar características específicas para assegurar um pH desejável da mistura de malte e adjunto durante a mosturação, promover a extração dos princípios amargos e aromáticos do lúpulo, proporcionar boa coagulação do trub (material mucilaginoso) durante a fervura do mosto, permitir uma fermentação asséptica e desenvolver cor, aroma e sabor característicos do tipo de cerveja a ser fabricada (VENTURINI FILHO, 2000).

3.2.2 Malte

De acordo com Almeida (2014), no Brasil, a indústria de cerveja utiliza a cevada de modo a obter o malte, que é designado como um termo técnico utilizado para conceituar a matéria-prima oriunda da germinação de qualquer cereal, tais como, trigo e centeio entre outros cereais sob condições controladas, podem ser utilizados para produção de cervejas, diversos cereais de composição predominantemente amilácea. Contudo, a cevada é o preferencial e até mesmo dito insubstituível, o que acarreta grande consumo deste pela indústria cervejeira.

O processo de fabricação do malte chama-se maltagem, que envolve o controle do umedecimento com água e posterior germinação sob condições controladas de temperatura com o intuito de formação das enzimas necessárias à hidrólise dos polissacarídeos e do amido presente no grão (BOLINI; MACEDO; SIQUEIRA, 2008).

Ronconi (2016) descreve a composição do malte como sendo: amido (55-65%), proteínas (9,5-11,5), hemicelulose e gomas (10%), substâncias graxas (2-3%), substâncias minerais (2,5-3,5%) e celulose (3,5-7%).

3.2.3 Lúpulo

O lúpulo, cujo nome científico *Humulus lupulus*, é uma trepadeira dioica, ou seja, flores femininas e masculinas ocorrem em espécimes separados, das quais apenas as flores femininas são importantes para o uso cervejeiro, por produzirem resinas e óleos essenciais que conferem, respectivamente, amargor e aroma para a cerveja (JACKSON, 2010).

As resinas encontradas no lúpulo fresco são constituídas, principalmente, pelos ácidos alfas ou humulonas e pelos ácidos betas ou lupulonas. A fonte mais importante de amargor é conferida pelos ácidos alfa, enquanto os ácidos betas interferem muito pouco no sabor da cerveja (HOUGH, 1985).

O lúpulo é comercializado no mercado na forma de cones secos, em pellets e como extrato, sendo às duas últimas, as formas mais utilizadas devido à estabilidade

por longos períodos e a riqueza em humulona, componente que confere o amargor (VENTURINI FILHO, 2000).

O lúpulo possui óleos essenciais que apresentam mais de 200 compostos, os quais propiciam sabores variados à cerveja. Estes óleos essenciais são altamente voláteis, sendo que cerca de 96 % dos mesmos são perdidos ao decorrer do processo de fabricação da cerveja (DRAGONE; SILVA, 2010). A Tabela 1 apresenta os principais constituintes do lúpulo em flor.

Tabela 1 - Composição do lúpulo em flor

COMPOSTOS	QUANTIDADE (g/100g)
Teor de umidade	8-12
Resinas amargas totais	12-22
Óleos essenciais	0,5-2
Substâncias tânicas (polifenóis)	4-14
Substâncias minerais	7-10
Lipídios e ceras	1-3
Proteínas	13-18
Aminoácidos	0,1-0,2
Carboidratos	2-4
Celulose	10-17

Fonte: Kunze (1999,p.195).

3.2.4 Levedura

As leveduras utilizadas na produção de cerveja pertencem à espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Nas cervejarias, durante o processo fermentativo existe a alta fermentação, onde a temperatura gira em torno de 18°C-22°C e a baixa fermentação, onde a temperatura oscila de 7°C a 14°C (BOULTON; QUAIN, 2001).

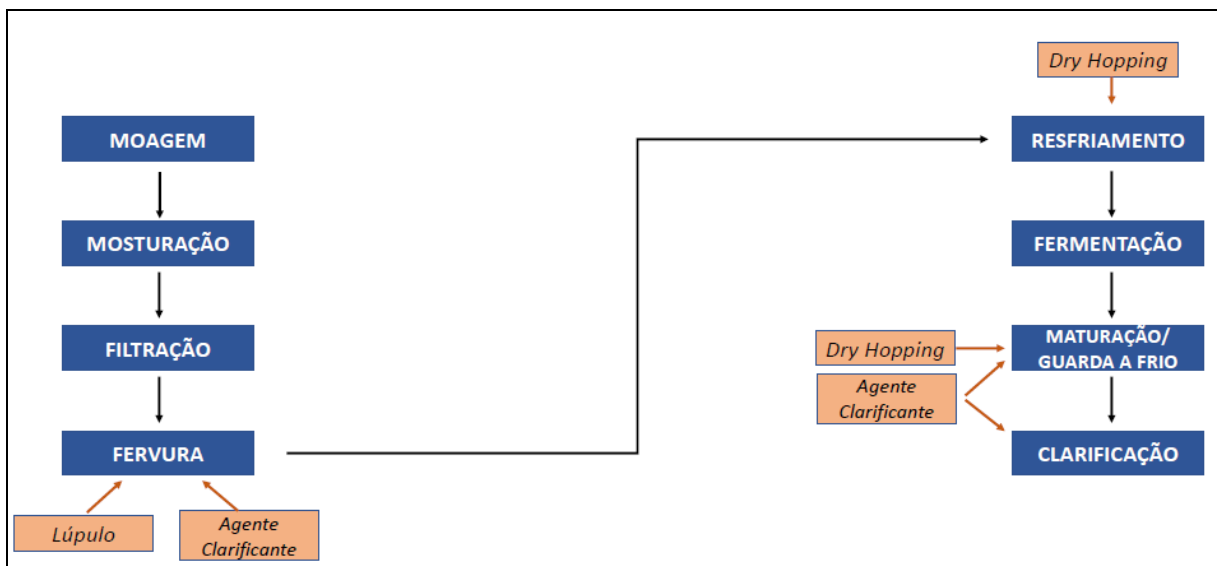
As leveduras são microrganismos eucarióticos predominantemente unicelulares e pertencentes ao Reino Fungi. As leveduras possuem a habilidade de metabolizar eficientemente os constituintes do mosto que é um caldo resultante da mistura fervida de malte e água, rico em açúcares fermentáveis. Esse caldo é filtrado, para receber o lúpulo e o fermento ser transformado em álcool e gás carbônico a fim de produzir uma cerveja com qualidade e estabilidade sensorial satisfatória. As leveduras, porém, podem ocasionar a turvação da cerveja, pois participam do processo fermentativo. Mas além da turvação, outras alterações

podem ocorrer na cerveja, tais como alterações referentes ao odor, onde a cerveja pode apresentar cheiro de mel, que geralmente é ocasionado por espécies dos gêneros *Acetobacter*, *Lactobacillus* e *Pediococcus*, e odores estranhos e cheiro de frutas, podendo ser ocasionado por contaminação de leveduras. Podem ainda ocorrer alterações nas cervejas referentes ao sabor, quase sempre provocadas pela acidificação da bebida, onde pode ocorrer a oxidação do etanol transformando-se em ácido acético, geralmente pela ação de algumas bactérias (*Acetobacter*), além de gostos estranhos que geralmente as leveduras são responsáveis (CARVALHO et. al., 2006).

3.3 PROCESSO DE PRODUÇÃO INDUSTRIAL DA CERVEJA

A Figura 3 mostra o processo de fabricação de cerveja e as etapas de adição de lúpulos e agentes clarificadores.

Figura 3 - Fluxograma do processo de fabricação de cerveja.



Fonte: Autoria própria (2020).

3.3.1 Moagem do Malte

A moagem tem por objetivo quebrar o grão do cereal e expor o seu amido interno, aumentando a superfície de contato com as enzimas do malte, favorecendo a hidrólise. Essa etapa tem relação direta com a rapidez das transformações físico-químicas, rendimento, clarificação e qualidade final da cerveja (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2010). Pode ser executada em equipamentos que permitam a exposição do conteúdo interno do cereal, do tipo moinho de rolos, discos ou martelos (VENTURINI FILHO, 2000).

Para o malte ser considerado como bem moído, o mesmo deve possuir as seguintes características: ausência de grãos inteiros e partículas de endosperma aderidas à casca, maioria das cascas rasgadas longitudinalmente, endosperma reduzido a partículas pequenas e de tamanho uniforme e quantidade mínima de farinha fina (BOTELHO, 2009).

3.3.2 Mosturação

No processo de mosturação ocorre a adição dos componentes para a produção do mosto cervejeiro, que consiste na adição da água ao malte moído e adição de complemento. Os objetivos da mosturação são de formar e de extrair, em solução, açúcares fermentáveis, aminoácidos, vitaminas, etc., a partir do malte. Dentre as principais enzimas envolvidas na hidrólise do amido estão α e β -amilase, dextrinase limite e α -glicosidase. Além disso, são muito importantes as enzimas proteolíticas, as quais hidrolisam as proteínas (RODRÍGUEZ; AGUILAR; ALMEIDA E SILVA, 2018).

Mais especificamente, em temperaturas de 60 a 65 °C, atuam as β -amilase, e nas temperaturas de 70 a 75 °C; as α -amilases. Devido à ação das enzimas amilases sobre as ligações α -1,4 do amido, origina-se a maltose, que durante a fermentação, devido à ação da enzima maltase, será convertida em glicose. Já as

dextrinas com ligações α -1,6 permanecerão sem se degradar, propiciando assim corpo à cerveja, colaborando também com o sabor e aroma (ARAÚJO, 2016).

3.3.3 Filtração do Mosto

Segundo Botelho (2009), após o processo de mosturação, torna-se necessário realizar a separação do extrato líquido (mosto) dos sólidos presentes a fim de se obter um mosto clarificado e uma boa recuperação de extrato. O resíduo sólido que é composto pela casca do malte, fragmentos de aleurona, plúmula, restos de parede celular e proteína coagulada é utilizado como torta de filtração, através da qual o mosto será separado (ARAÚJO, 2016).

3.3.4 Fervura

Após o mosto filtrado, ele é submetido à fervura, que tem como finalidades, a isomerização dos lúpulos, garantir o desenvolvimento de substâncias aromáticas, desenvolvimento coloidal, concentração do mosto, eliminação de compostos sulfurosos, inativação completa das enzimas presentes, a esterilização do mosto e o escurecimento do mosto, através da reação de Maillard. A isomerização dos lúpulos é a conversão dos alfa ácidos em iso-alfa-ácidos, responsáveis por conferir amargor à cerveja. O ponto máximo de isomerização ocorre entre 60 e 70 minutos de fervura, e corresponde a aproximadamente 60% dos alfa ácidos totais. A inativação das enzimas é necessária, caso contrário, ao final do processo teríamos uma cerveja adstringente. Além disso, durante a fervura do mosto, proteínas e complexos de proteínas como os taninos, precisam ser eliminados para obter uma cerveja clarificada. Com o aumento da fervura as proteínas coagulam e precipitam no fundo da tina de fervura. Esse precipitado é denominado “trub”. Na maioria das vezes, há uma ineficiência na coagulação das proteínas, levando uma cerveja sem

estabilidade coloidal. Uma maneira de remover essas proteínas é através da adição de agentes clarificantes para garantir sua estabilidade (GRESSER, 2009).

3.3.5 Resfriamento

De acordo com Briggs et al. (2004), depois da remoção do *trub*, o mosto é resfriado até a temperatura na qual a levedura será inoculada, na sequência é aerado ou oxigenado com intuito de fornecer oxigênio para a levedura no estágio inicial da fermentação. Tradicionalmente, 15 a 22°C para *ale* e 6 a 12°C para *lager*.

O processo deve ser realizado rapidamente e sob condições assépticas para interromper as reações químicas, assim como minimizar as possibilidades de crescimento de qualquer microrganismo contaminante. Bamforth (2003) relata que enquanto o mosto é resfriado, muitos sólidos precipitam. Sendo estes constituídos de proteínas e alguns lipídeos. Esse precipitado pode ser removido por floculação, flotação, centrifugação ou filtração.

3.3.6 Fermentação

Tenge (2009) descreve que após o mosto ser resfriado e aerado, passa a ser transferido para os tanques de fermentação para entrarem em contato com as leveduras. Assim, as leveduras convertem os açúcares presentes em etanol e gás carbônico (CO₂). Durante este processo temos também a formação de subprodutos, que têm um efeito considerável sobre o perfil do aroma e sabor da cerveja. Os teores desses subprodutos variam com os padrões de crescimento celular que são influenciados pelas condições de processo. Com isso as condições de fermentação, tais como concentração e composição do mosto, temperatura e duração do processo fermentativo sobre as características organolépticas da cerveja tem sido objetivo de estudo de vários pesquisadores.

3.3.7 Maturação

Após a fermentação principal, a cerveja verde, que ainda possui uma suspensão de leveduras e uma parte de material fermentescível, passa por uma fermentação secundária chamada maturação, e contribui para a clarificação da cerveja e melhoria do seu sabor (BOLINI; MACEDO; SIQUEIRA, 2008).

Uma vez concluída a fermentação, a cerveja é resfriada a 0 °C. A maior parte da levedura é separada por decantação (sedimentação) e tem início a maturação. Nessa fase, pequenas e sutis transformações ocorrem para aprimorar o sabor da cerveja. O carboidrato residual é consumido pelas leveduras remanescentes, fenômeno conhecido por fermentação secundária. Essas leveduras também metabolizam substâncias indesejáveis oriundas da fermentação (acetaldeído em ácido acético, dicetonas vicinais, como a 2,3-pentanodiona em 2,3-butanodiol, e compostos sulfurados como o sulfeto de dietila, $(C_2H_5)_2 S$, em sulfatos inorgânicos e etanol). A maturação leva de 6 a 30 dias, variando de uma cervejaria para outra. Ao final dessa fase, a cerveja está praticamente concluída com aroma e sabor finais definidos (ROSA; AFONSO, 2015).

3.3.8 Clarificação

No final da maturação, a cerveja ainda contém leveduras suspensas, partículas coloidais devido à formação de complexos proteínas-polifenóis e outras substâncias insolúveis formadas devido às baixas temperaturas e ao baixo pH durante esta etapa. Então para se obter um produto brilhante e límpido é necessária uma etapa de clarificação. Existem quatro técnicas básicas de clarificação que podem ser utilizadas tanto individualmente como em combinação: a sedimentação por gravidade, na qual a cerveja é mantida por longo período a 0 °C, é um processo simples e que pode ser feito concomitantemente à maturação, no entanto, é o mais lento, b) Clarificantes, na qual agentes clarificantes são adicionados para tornar a

sedimentação mais rápida, c) Centrifugação, na qual a velocidade de sedimentação é aumentada até 1000 g pela força centrífuga, d) Filtração, na qual ocorre a remoção, em várias etapas, de partícula entre 0,5 µm e 4,0 µm e das leveduras residuais. Este método deixa a bebida, além de límpida, brilhante (AQUARONE, 2001).

3.4 AGENTES CLARIFICANTES

O uso de agentes adsorventes (clarificantes) como aditivos para remoção do excesso de compostos de turvação é uma prática comum nas grandes cervejarias. Estes agentes destinam-se, principalmente, à adsorção de complexos proteico-fenólicos ou de fenóis e proteínas de alto peso molecular, conforme descrito na Tabela 2.

Embora a cerveja possa ser obtida com uma boa limpidez através dos outros processos, alcançasse melhores resultados e em tempos menores utilizando estes agentes. Devido a sua estrutura química, esses agentes possuem cargas positivas e interagem com as células de leveduras, as quais apresentam cargas negativas e com proteínas que também estão carregadas negativamente. Os agentes clarificantes mais comuns é a cola de peixe (ictiocola ou *isinglass*), ácido tânico, silicatos, polivinilpolipirrolidona (PVPP) e sílicas géis (GRESSER, 2009).

Tabela 2 - Clarificantes, cargas e precipitação

CLARIFICANTE	CARGA DO AGENTE CLARIFICANTE	CARGA DO MATERIAL PRECIPITADO
CARRAGENA	Grupos sulfatos carregados negativamente	Proteína que possui regiões de forte carga positiva
GELATINA	Moléculas carregadas positivamente	Atraem células de levedura e coloides carregados negativamente
SOL DE SÍLICA GEL	Carregado negativamente	Liga-se às cargas positivas de proteína

Fonte: Autoria própria (2020).

3.4.1 Carragena

Carragenas são grupos de polissacarídeos naturais que estão presentes na estrutura celular de algas do tipo *Rhodophyceae*. Sua estrutura química é composta de poligalactanos, polímeros sulfatados de moléculas alternadas de D-galactose e 3-6 anidro-D-galactose (3,6-AG) unidas por ligações $\alpha(1-3)$ e $\beta(1-4)$ glicosídicas. Suas principais propriedades físico-químicas são gelificação, solubilidade, estabilidade, reatividade, interatividade e pH. A interatividade, principal propriedade utilizada na etapa de clarificação deve-se à forte interação eletrostática, entre grupos sulfatos negativamente carregados da molécula de carragena com a estrutura da proteína que possui regiões de forte carga positiva (FANI, 2003).

3.4.2 Gelatina

A gelatina é uma proteína funcional solúvel em água, que possui a capacidade de formar géis transparentes sob condições específicas. Sua obtenção é realizada através da hidrólise parcial de colágeno de peles de animais, ossos e tendões, com aplicação de calor em pH alcalino ou ácido. Propriedades físicas, estruturais e variações químicas ocorrem devido a diferentes fontes de colágeno e o método de preparo (DJAGNY; WANG; XU, 2001).

O mecanismo de clarificação com gelatina é semelhante ao do colágeno, em que moléculas de gelatina carregadas positivamente atraem células de levedura e colóides carregados negativamente na cerveja, que são então removidos por floculação (WALKER; CAMARENA; FREEMAN, 2007).

3.4.3 Sol de Sílica Gel

A sílica sol é uma suspensão aquosa que contém 30% (v/v) de dióxido de silício, SiO₂ (ácido sílico a 30% dispersado coloidalmente), subproduto da indústria de vidro. Esse agente é utilizado como clarificante, pois sendo negativamente carregado, liga-se às cargas positivas de proteína, iniciando a floculação e sedimentação. A sílica sol previne a instabilidade das proteínas causadas pela clarificação com excesso de gelatina e aumenta a taxa de floculação.

Devido a sua eletronegatividade, reage com os compostos de carga positiva e, em especial, com as proteínas existentes nos mostos de cervejas, vinhos e sucos de frutas, com formação de flocos que precipitando arrastam outras partículas em suspensão que constituem a turbidez. Desse modo, originam-se borras compactas de volume reduzido (ALBUQUERQUE, 2009).

3.5 ESTABILIDADE DA CERVEJA

A estabilidade da cerveja está diretamente ligada com a qualidade da cerveja. Se produzirmos uma cerveja instável, conseqüentemente ela não apresentará uma boa qualidade. Qualquer bem de consumo está ligado diretamente a total satisfação do consumidor ou cliente. Um dos principais fatores da estabilidade é garantir uma cerveja brilhante e límpida (GRESSER, 2009).

A instabilidade física da cerveja ocorre principalmente pela formação de turbidez, a partir da reação de polimerização dos compostos fenólicos e sua associação com algumas proteínas. A matéria-prima utilizada para a produção da cerveja é fonte de precursores da turbidez, como polifenóis e proteínas, mas sua formação pode ser estimulada por uma série de fatores, como a presença de oxigênio e de íons metálicos, a pasteurização, e principalmente a temperatura de estocagem, que pode acelerar a taxa das reações (BOLINI; MACEDO; SIQUEIRA, 2008).

3.6 RESÍDUOS DO PROCESSO CERVEJEIRO

Diversos avanços tecnológicos têm proporcionado à indústria cervejeira, grandes economias pela menor geração de subprodutos ao longo do processo. Contudo, certos resíduos intrínsecos à produção da bebida dificilmente têm redução de sua quantidade gerada, como o bagaço de malte, o trub e a levedura residual cervejeira e resíduos de lúpulos vindos da lupulação a frio. Estes resíduos são responsáveis pela perda de aproximadamente 20 de cada 100 L da água cervejeira utilizada no processo, principalmente pelo elevado teor de umidade que os compõe, entre 80 e 90%, promovendo grande arraste de mosto e perda de extrato, bem como de cerveja, a depender da fase em que o resíduo é retirado, o que acarreta a geração de significativas quantidades de efluentes (HUIGE, 2006).

O trub quente é o segundo resíduo sólido gerado no processo cervejeiro, durante a etapa de cocção do mosto. É resultante, predominantemente, da coagulação de proteínas, principalmente de elevada massa molar, cujas moléculas tendem a perder água de solvatação por ação do calor, o que promove sua desnaturação. Contudo, outras substâncias podem estar presentes, devido à sua participação na formação destes complexos ou devido ao arraste durante sua deposição. Além da coagulação proteica, a presença de cátions, principalmente Ca^{2+} , de compostos do lúpulo que apresentam baixa eficiência de solubilização, de polifenóis e de carboidratos não totalmente hidrolisados na mostura, também irão influenciar a formação do trub. Em geral, formam-se entre 0,2 e 0,4 kg de trub úmido (80 a 90% de umidade) para cada hectolitro de cerveja produzida (HUIGE, 2006).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Foram utilizados resíduos de lúpulos das variedades americanas Ekuanot, Citra, Mosaic e Amarillo. Esses materiais foram gerados no processo de fabricação de cerveja artesanal, na etapa conhecida como *dry hopping*. Para produção da cerveja a ser testada com os clarificantes, os ingredientes foram: malte tipo Pilsen e malte tipo caramelo, marca Carared (proporção: claro 94%: caramelo 6%), lúpulos das variedades: Herkules, Cascade e Centennial, na etapa de fermentação utilizou-se cepa de *Saccharomyce cerevisiae* de alta fermentação de denominação comercial Fermentis Safale S-05 (média flocculação). Nos ensaios físico químicos foram utilizados reagentes com grau de pureza analítica.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Preparo do Extrato de Lúpulo

Os lúpulos das variedades americanas (Citra, Mosaic, Ekuanot e Amarillo) foram obtidos de produções de cervejeiros artesanais na região de Campo Mourão – PR, após os processos de *dry hopping* na produção da cerveja. Esses materiais foram retirados e encaminhados para secagem em estufa (TE394/2-MP Tecnal) a 45°C por 24 horas.

Para a obtenção dos extratos foram pesados 2,00 gramas de cada resíduo de lúpulo, depositados em tubos falcon de 40 mL e se adicionaram 20 mL de etanol em diversas concentrações (96%, 75%, 50% e 25% v/v). Os tubos foram tampados e agitados com auxílio de um agitador rotativo (TE 166 Tecnal), a temperatura ambiente (24 °C a 27 °C) por 24 horas. O sobrenadante foi recuperado por filtração a vácuo usando como filtro papel Whatman número 1.

4.2.2 Quantificação de Proantocianidinas

A quantificação dos taninos condensados (proantocianidinas) foram determinadas por espectrofotômetro, método de vanilina. Adicionou-se, em tubo de ensaio, 0,6 mL de cada extrato de resíduo de lúpulo e acrescentaram-se 1,5 mL de solução de vanilina a 1% em metanol e 1,5 mL solução de ácido sulfúrico a 25% em metanol. A mistura foi posta em banho de água a 30°C por um período de 15 minutos. A leitura da absorbância a 500 nm foi registrada. A curva padrão foi construída nas mesmas condições da reação em que a amostra foi substituída pela catequina. Os resultados foram expressos como mg de equivalente de catequina por litro de extrato de lúpulo.

4.2.3 Produção da Cerveja

A metodologia utilizada na produção da cerveja foi baseada na descrição do processo de produção de cervejas artesanais, por Palmer (2006). Foi utilizado uma panela elétrica automatizada (modelo BeerMax 25 L) com bombas de trasfega e painel eletrônico para controle das rampas de “*tempo (x) temperatura*” nas etapas de mosturação e fervura do mosto cervejeiro, foi produzido um mosto tipo ale com 12°Brix encaminhados para etapa de fermentação.

O malte foi moído em moinho de disco até separar a casca do endosperma do grão, preservou-se a casca do grão para ser utilizada na etapa de filtração do mosto. Na etapa de mosturação foi utilizado água potável na proporção de 3 L /kg de malte, adicionando ácido láctico 85% até atingir pH 5,2 considerado ideal para melhor trabalho das enzimas durante a mosturação do mosto. Foi utilizado 2 tipos de malte: tipo Pilsen (claro) 4,7 kg e malte caramelo (Carrared) 0,3 kg.

A mosturação ocorreu na temperatura de 65-66°C por 40 minutos, propiciando que α -amilase e a β -amilase presentes no malte hidrolisassem o amido produzindo maltose. Posteriormente, elevou-se a temperatura para 70°C por 30 minutos, para favorecer a ação da α -amilase que produz dextrina (responsável pelo

corpo da cerveja). Para finalizar a etapa de mosturação, elevou-se a temperatura, 76°C por 10 minutos, para ocorrer a inativação das enzimas alfa e beta amilase.

O mosto foi separado do bagaço de malte por processo convencional de filtração e a torta de filtro lavada com água a 76°C.

O líquido obtido foi direcionado para outro recipiente de inox e submetido à fervura por 10 minutos. O primeiro tratamento térmico foi necessário para que ocorresse a desnaturação das proteínas, na sequência foram adicionados 5,0 gramas de lúpulo do tipo amargor, variedade denominada Herkules, esse ponto foi considerado o tempo zero da lupulagem. A fervura ocorreu por 1 hora. Após isso, foram adicionados os lúpulos tipos aromáticos das variedades americanas Cascade e Centennial, sendo 10g de cada um, nesta etapa ocorreu a transformação dos alfa-ácidos do lúpulo em α - isoácidos.

Na etapa posterior, o mosto cervejeiro foi resfriado com auxílio de uma bomba de trasfega e serpentina de inox imersa em recipiente com água/gelo, sendo esse líquido direcionado para um balde fermentador. O recipiente fermentador foi tampado com batoque hidráulico e deixado em repouso, fermentando sob temperatura de 18°C durante dez dias, em local com baixa luminosidade. Após a fermentação foram separadas 8 garrafas previamente lavadas e sanitizadas com vapor, o mosto já fermentado foi adicionado em cada uma das garrafas completando um volume de 1,5 L/ garrafa.

A maturação/guarda a frio foi realizada por 14 dias em câmara frigorífica regulada a temperatura de 0°C. No nono dia em guarda a fria foram adicionados os extratos hidro alcoólicos dos resíduos dos lúpulos Citra, Mosaic, Ekuanot e Amarillo em concentração de 3,49 miligramas de equivalentes de catequina por litro de cerveja final para avaliação do poder clarificante. Essa dosagem foi estipulada ao verificar que, em estudo realizado por Gassara et al., (2015), utilizou-se quitina e quitosana separadamente em concentração de 5 mg/ litro de cerveja, sendo estes, floclulantes naturais para clarificação cervejeira.

Os clarificantes comerciais, goma carragena (Whirlfloc ®G), gelatina incolor e sol de sílica gel (Spindasol ®SB3) foram utilizados respectivamente nas concentrações de 50 mg (KERRY, 2014) 166 mg (MINICERVECERIA, 2019) e 290 mg (AEB..., 2015) por litro de cerveja, conforme recomendação técnica dos fabricantes. Também foi preparada uma amostra denominada controle sem a adição de extratos de lúpulos/agentes clarificantes.

4.2.4 Determinação de Compostos Fenólicos Totais

O índice de polifenóis totais foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Ciocalteu segundo metodologia de Singleton e Rossi, (1965), com algumas modificações. Foram pipetados 100 µL da amostra, 1700 µL de água destilada, e 250 µL de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos de repouso, adicionou-se 1500 µL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5%. As soluções foram incubadas ao abrigo da luz por 30 minutos sob temperatura de 37°C para completa reação. A seguir, a absorbância foi lida a 765 nm em espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited, Beijing, China) previamente calibrado contra o branco. Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico e expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por litro (mg EAG/L).

4.2.5 Determinação da Claridade e Turbidez

Utilizou-se a metodologia descrita por Dale, Tran E Lyddiatt (1995) na realização da análise espectrofotométrica. Alíquotas da região superficial de cada um dos mostos foram coletadas, a fim de se determinar a claridade, através da medição da absorbância no comprimento de onda de 600 nm a 20°C e 25°C. Foi utilizado um espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited) e utilizou-se água destilada como amostra de branco (amostra controle). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

Determinou-se a turbidez pelo método nefelométrico com turbidímetro (modelo HI 98703-01) sendo a turbidez expressa em unidades nefelométricas de turbidez (NTU) convertidos em unidades EBC (European Brewing Convention), o método é baseado na comparação da intensidade de luz espalhada pela amostra em condições definidas, com a intensidade da luz espalhada por uma suspensão considerada padrão.

4.2.6 Determinação de Proteínas Totais

A quantificação das proteínas totais foi determinada pelo método de Bradford, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 595 nm (Bradford, 1976). Este método é baseado na interação entre o corante BG-250 Coomassie brilliant blue e macromoléculas de proteínas que contém aminoácidos de cadeias laterais básicas ou aromáticas. No pH de reação, a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante BG-250 provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm.

4.2.7 Teste Preditivo de Vida de Prateleira: Avaliação da Estabilidade Coloidal

No teste foram usadas cervejas que tinham 20 dias de engarrafamento e estocadas a 0°C. As amostras estavam formadas por quatro categorias: cervejas sem clarificantes, cervejas que continham extrato do resíduo de lúpulo citra como clarificante, cervejas clarificadas com sol de sílica gel (Spindasol ®SB3) e cerveja clarificada com gelatina. A estabilidade coloidal foi avaliada por meio da metodologia Analytica-EBC, método 9.30 (1997). Foi realizada a leitura de turbidez em um grupo de cervejas. Outro grupo de cervejas foi armazenado a 60°C por 48 horas e a seguir resfriado a 0°C por 24 horas. Finalmente realizou-se a determinação da turbidez. Sempre, a turbidez foi determinada em amostras desgaseificadas e temperatura de 25°C.

4.2.8 Análise Sensorial

Define-se análise sensorial como uma metodologia científica utilizada para avaliar, medir e interpretar reações ocasionadas pelas características dos alimentos

e bebidas, quando estas são percebidas pelos sentidos da visão, audição, tato, olfato e gustação (BARBOZA; FREITAS; WASZCZYNSKYJ, 2003).

O número de avaliadores depende do objetivo do teste. Para análise de diferença no atributo do produto, recomenda-se um mínimo de 12 a 15 avaliadores pré-selecionados e treinados. Para testes de preferência, recomenda-se, no mínimo, 60 avaliadores por segmento, isto é, grupo de consumidor tipificado ou público-alvo definido (DUTCOSKY, 2013).

Devido a real situação de saúde a nível mundial (coronavírus) foi realizada a degustação sensorial da cerveja obtida experimentalmente com 05 provadores, diante da impossibilidade de termos um mínimo de avaliadores treinados, a resposta sensorial passou a ser qualitativa para os atributos de sabor, aroma, aparência, sensação na boca e impressão geral, conforme modelo de súmula sensorial (Anexo 1).

As degustações só foram possíveis de serem realizadas em duas etapas, sendo uma, na casa de um participante e outra etapa na UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Os provadores são pessoas conhecidas e próximas do meio cervejeiro e habituados a fabricação e degustação de cervejas artesanais, sendo eles dois provadores qualificados como Beer Sommelier pela Escola Superior de Cerveja e Malte, dentre os dois, um provador habilitado como juiz oficial Recognized BJCP (Beer Judge Certification Program), e os outros três avaliadores são apreciadores e cervejeiros artesanais da região de Campo Mourão.

As cervejas avaliadas foram uma sem clarificante e outra que continha extrato do resíduo de lúpulo citra como agente clarificante.

4.2.9 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e a análise estatística dos dados experimentais foi realizada através da análise de variância ANOVA e do teste de comparação de média de Scott Knott a um nível de significância de 5%. Para tal análise o software Sisvar foi utilizado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXTRAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS NOS EXTRATOS DE RESÍDUOS DE LÚPULOS

Na tabela 3 são apresentados os teores de proantocianidinas expressos em miligramas de equivalente de catequina por litro (mg EC/L) de extrato.

Tabela 3 - Concentração de proantocianidinas (mg equivalentes de catequina/L) dos extratos dos resíduos de lúpulos extraídos com diferentes concentrações de etanol aquoso ¹.

Extratos de Resíduos de Lúpulos	96% Etanol	75%Etanol	50%Etanol	25%Etanol
Amarillo Dry Hop	33,14 ± 3,4 ^d	61,82 ± 2,5 ^b	107,06 ± 2,0 ^a	92,41 ± 1,9 ^c
Citra Dry Hop	152,95 ± 2,6 ^d	275,31 ± 2,3 ^b	364,52 ± 1,0 ^a	141,48 ± 1,2 ^c
Mosaic Dry Hop	155,5 ± 1,6 ^d	244,08 ± 1,6 ^b	273,39 ± 1,1 ^a	104,51 ± 1,5 ^c
Ekuanot Dry Hop	138,29 ± 2,9 ^d	270,84 ± 2,0 ^b	335,21 ± 1,4 ^a	161,84 ± 1,0 ^c

¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão. Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem significativamente (p<0,05) pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autoria própria (2020).

Observa-se que independente da proporção, etanol/água utilizada, os extratos vindos dos resíduos de lúpulo Amarillo foram os que apresentaram os menores teores de proantocianidinas, de 33,14 a 107,06 mg equivalentes de catequina (mg EC/L) e o maior correspondeu ao resíduo do lúpulo citra com teores de 152,95 a 364,52 (mg EC/L). É notório que a maior extração das proantocianidinas foi atingida com o uso da solução etanol/água contendo 50%/50%,v/v com valores de 107,06; 364,52; 273,39 e 335,21 mg EC/L respectivamente para os resíduos de lúpulos Amarillo, Citra, Mosaic e Ekuanot. Esses valores correspondem a 220,61 (Amarillo); 752,53 (Citra), 578,43 (Mosaic) e 697,05 (Ekuanot) em miligramas de equivalentes de catequinas por cem gramas de resíduos de lúpulo (base seca). Segundo Stevens et. al., (2002) o lúpulo é fonte de proantocianidinas que dependendo da variedade e do método de análise utilizado podem variar de 500 a 5000 miligramas por cem gramas de lúpulo nativo (base seca). Os resultados mostram que o processo de *dry*

hopping (15°C por 6 a 7 dias) não conseguem extrair a totalidade das proantocianidinas, ficando no resíduo, quantidades consideráveis desse composto polifenólico.

As proantocianidinas do lúpulo contêm preponderância de material polimérico formado por oligômeros de 2 a 7 unidades de flavan-3-ol e que apresentam elevada afinidade de complexar-se com as proteínas, conferem estabilidade organoléptica e de cor e contribuem positivamente para os atributos desejáveis de adstringência e amargor (JING LI; DEINZER, 2009).

5.2 EXTRATOS DE RESÍDUOS DE LÚPULOS COMO CLARIFICADORES PÓS FERMENTAÇÃO

No processo de fabricação de cerveja na etapa de maturação são utilizados agentes clarificadores com a finalidade de inibir a formação de turbidez devida a complexação de proteínas solúveis com compostos fenólicos, os clarificantes podem agir retirando proteínas ou compostos fenólicos e até precipitando células de levedura, conduzindo a obtenção de cervejas mais límpidas e com estabilidade coloidal.

No presente estudo o solvente etanol/água (50/50%, v/v) foi o mais eficiente na extração das proantocianidinas. Por tal motivo os extratos dos lúpulos Amarillo, Citra, Mosaic e Ekuanot obtidos com esse solvente foram avaliados como clarificantes na etapa de maturação em dosagem de 3,49 miligramas de equivalentes de catequina por litro de cerveja final.

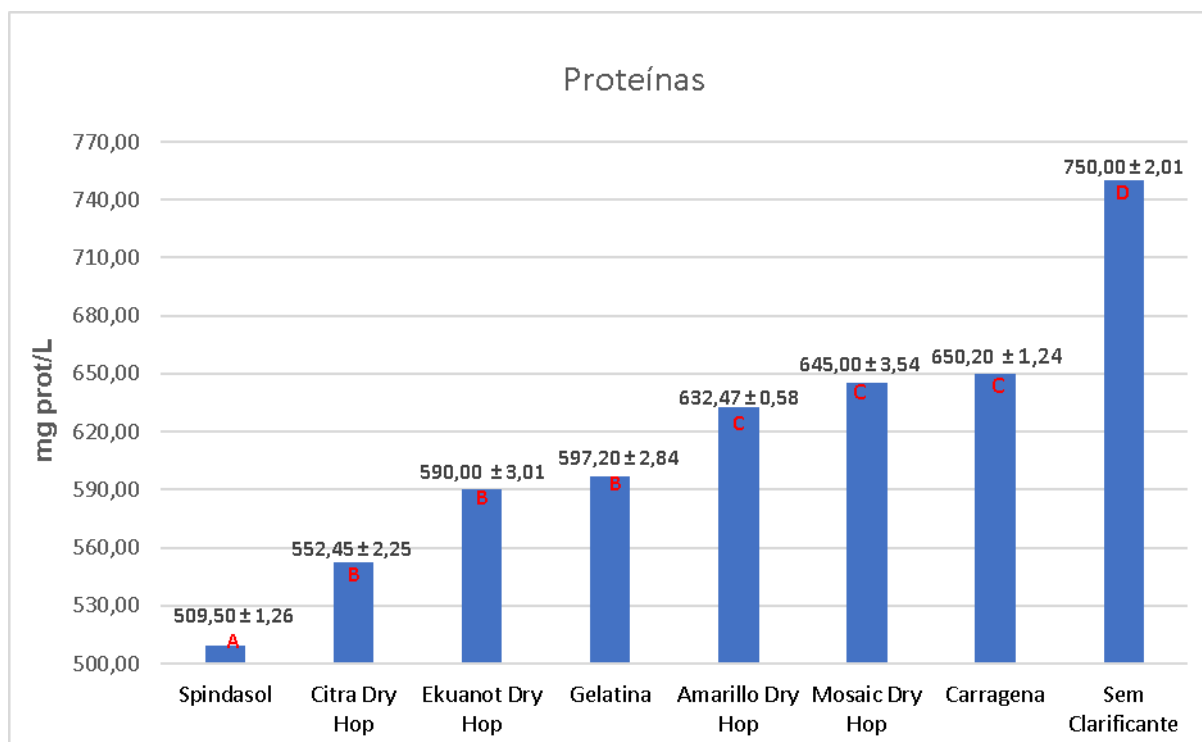
Como indicadores do processo de clarificação foram usados a quantificação de proteínas e de compostos fenólicos totais, da absorbância a 600 nm e a medida da turbidez da cerveja pós maturação/guarda a frio (0°C por 14 dias).

5.2.1 Quantificação de Proteínas

Os agentes clarificantes foram acrescentados a cerveja nos últimos cinco dias antes do término da maturação/guarda a frio. O teor de proteína no início da

maturação da cerveja foi de 898,16 mg/L, o comportamento desse parâmetro após cinco dias da adição dos clarificantes é apresentado na Figura 4.

Figura 4 - Quantificação de proteínas pelo método de Bradford (mg proteína/L) nas cervejas adicionadas de extratos de resíduos de lúpulos e clarificantes comerciais.¹



¹ Resultados expressos em média \pm desvio padrão. As colunas seguidas pelas mesmas letras não diferiram significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autoria própria (2020).

Observa-se que o sol de sílica gel (Spindasol ®SB3) foi quem mais reduziu o teor de proteína na cerveja, 43,3% quando comparado com a cerveja no início da maturação, e os extratos de lúpulos Citra e Ekuanot tiveram comportamento similar a gelatina (552,45 a 597,20 mg/litro), com reduções de 33,5% a 38,5% no teor de proteínas respectivamente, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) entre eles, enquanto que os extratos de lúpulos Amarillo e Mosaic foram os menos eficientes e não se diferenciaram ($p > 0,05$) do clarificante comercial carragena. A amostra sem adição de clarificante apresentou redução de 16,5% no teor de proteínas.

A diminuição do teor de proteínas das cervejas adicionadas de extratos Amarillo, Mosaic e Carragena, pode ser atribuída ao fenômeno natural de floculação pelo efeito da guarda a frio, por outro lado, os extratos de Citra e Ekuanot mostraram

efeito “removedor” de proteínas, similar ao clarificante gelatina, usado principalmente em microcervejarias, no entanto, não superaram ao clarificante sol de sílica gel (Spindasol ®SB3).

Esse último clarificante é amplamente reconhecido pela alta capacidade de adsorver proteínas como também de reduzir a quantidade de células de leveduras no estágio de maturação (LEIPER; MIEDL, 2009).

A gelatina é um polímero que apresenta tanto cargas positivas como negativas, e no pH 4,2 da cerveja tem a capacidade de se ligar a superfície das leveduras carregadas negativamente; e a porção de carga negativa do clarificante pode se ligar as proteínas das cervejas carregadas positivamente (LEIPER; MIEDL, 2009).

Segundo Dinnella et al., (2009) o complexo polifenol-proteína é formado através de pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxila do composto fenólico e os grupos carbonila das proteínas ou ainda por meio de interações hidrofóbicas, formando agregados de tamanho coloidal resultando na formação de sedimentos.

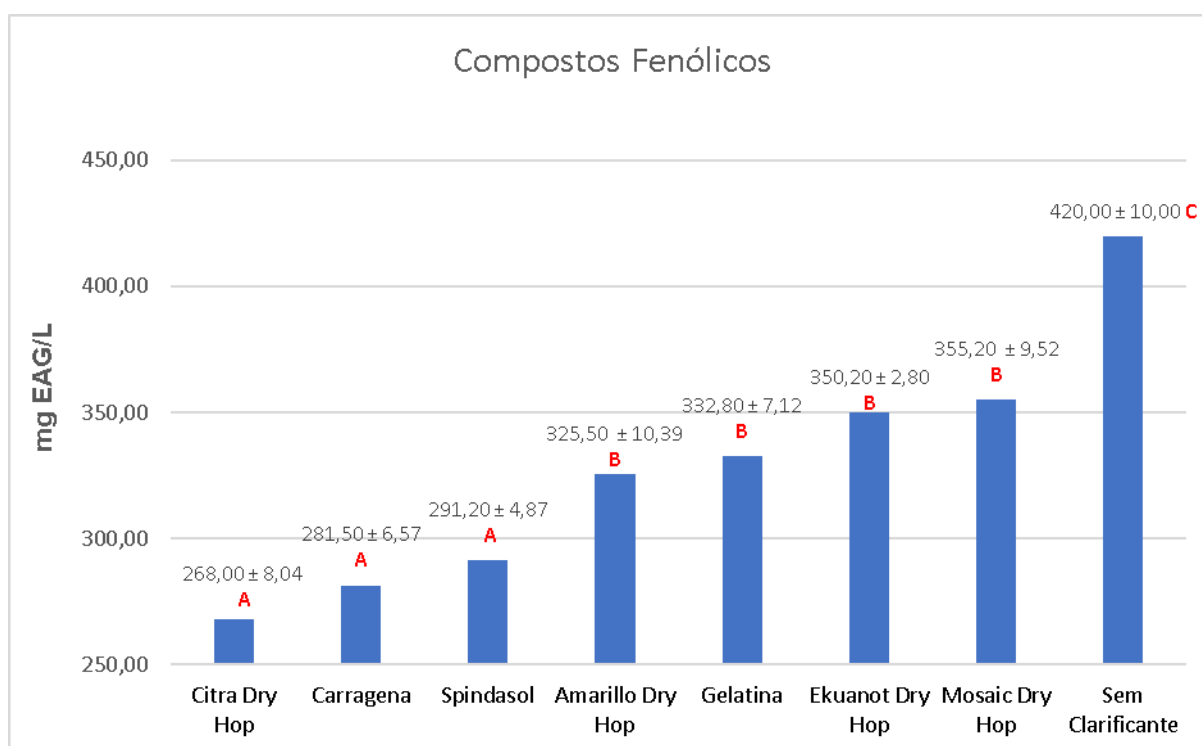
Chama a atenção que apesar de os extratos terem sido uniformizados em 3,49 mg de proantocianidinas, os procedentes do Citra e Ekuanot foram superiores ao Amarillo e Mosaic, o resultado sugere que além do teor de proantocianidinas a composição do extrato pode influenciar no comportamento de clarificação, segundo Jing Li e Deinzer (2009) a proporção de diferentes proantocianidinas (dímeros: tipos A, B e D; trímeros: tipos C e T) variam conforme a variedade do lúpulo. Estudos recentes de Gadon et al., (2019) verificaram que as proantocianidinas podem apresentar elevados graus de polimerização, atingindo no lúpulo Magnum até 56 kDa e 100 kDa no lúpulo Saaz, esses valores correspondem respectivamente a graus de polimerização de 192 e 344 unidades monoméricas.

Sem menosprezar a composição do extrato bruto de lúpulos, estudo conduzido por Frazier et al., (2010) evidencia relação entre o grau de polimerização de proantocianidinas com a interação com proteínas (gelatina) em um sistema modelo. Foi verificado que as proantocianidinas do sorgo que possuem grau de polimerização de 17 mDP, demonstraram maior capacidade de interação com gelatina (rica em prolina) do que as proantocianidinas da semente de uva e acácia (2 a 5 DP) e por último classificou a proantocianidina do chá-verde com 1,6 mDP.

5.2.2 Quantificação dos Compostos Fenólicos Totais

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) no início da maturação da cerveja foi de 502 mg EAG/L, o comportamento desses compostos após cinco dias da adição dos clarificantes é apresentado na Figura 5.

Figura 5 - Quantificação dos compostos fenólicos totais (CFT) (mg equivalentes ácido gálico/L) nas cervejas adicionadas de extratos de resíduos de lúpulos e clarificantes comerciais ¹.



¹ Resultados expressos em média \pm desvio padrão. As colunas seguidas pelas mesmas letras não diferiram significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autoria própria (2020).

Observa-se que o extrato de lúpulo Citra, a carragena (Whirlfloc ®G), e o clarificante comercial sol de sílica gel (Spindasol ®SB3), foram os que reduziram em maior intensidade os teores de CFT (268,00 a 291,20 mg/L) reduções de 42% a 46,6% em compostos fenólicos totais quando comparado com a cerveja no início da maturação, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) entre eles, enquanto os extratos de lúpulos Amarillo, Ekuanot e Mosaic foram os menos eficientes e não se

diferenciaram ($p > 0,05$) do clarificante comercial gelatina. A amostra sem adição de clarificante apresentou redução de 16,3% em CFT.

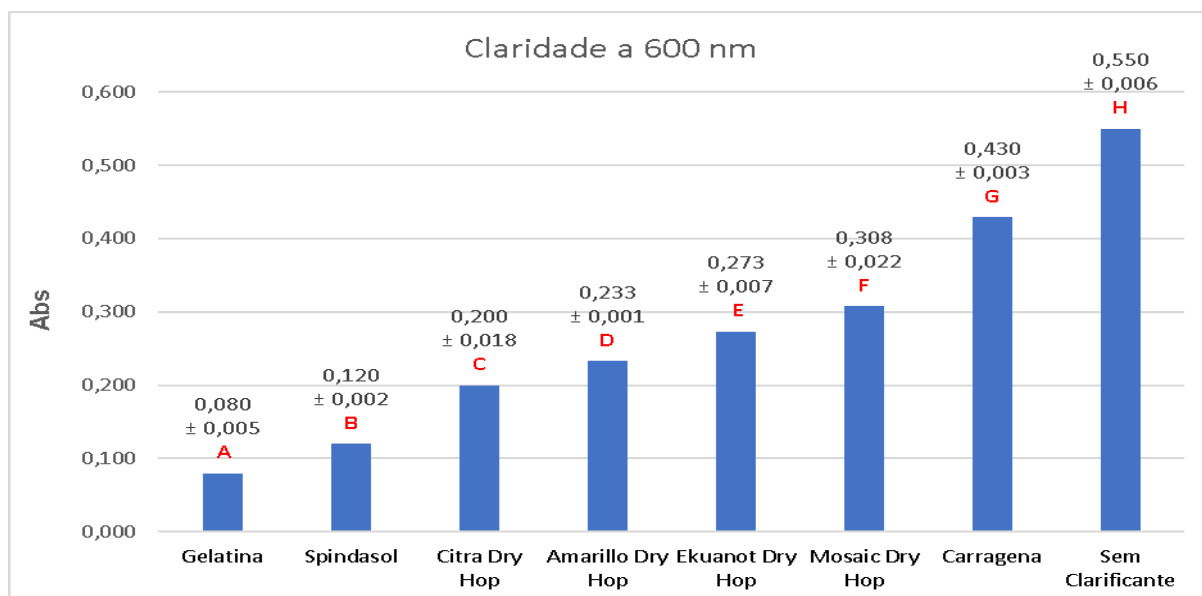
Uma das razões para o comportamento da carragena apresentar uma redução significativa do teor de CFT é que ela, a carragena (cargas negativas) é um hidrocolóide extraído de algas vermelhas, um polímero composto de galactose e monômeros de sulfato de galactose, sendo muito eficaz por se complexar com as proteínas (cargas positivas) polifenóis, polissacarídeo e outros materiais (POREDA et al., 2015).

5.2.3 Claridade da Cerveja

Existem vários tipos de turvação, todas prejudiciais ao produto acabado. A turvação metálica (por compostos de elementos como ferro, cobre e estanho) é ocasionada pela presença de polipeptídios. Outra turvação pode ser causada pela formação de complexos proteínas-polifenóis, que tendem a reagir lentamente durante o processo de estocagem. São insolúveis em água a baixas temperaturas. Essas turvações reforçam a importância da condução criteriosa das etapas de maturação e filtração na qualidade da cerveja (ROSA; AFONSO, 2015).

As proteínas influenciam dois aspectos principais de qualidade na cerveja final: estabilidade da espuma e formação de turbidez. Segundo Asano et al. (1982) as proteínas combinam-se com os polifenóis para formar complexos de proteínas-polifenóis, e acredita-se que esses complexos sejam responsáveis pela formação da turbidez a frio. A Figura 6 mostra a claridade (valor da absorbância a 600 nm) encontrados para as amostras de cervejas com os extratos/agentes clarificantes e amostra controle sem adição de clarificantes.

Figura 6 - Absorbância a 600 nm para avaliação da claridade das cervejas adicionadas de extratos de lúpulos e dos clarificantes goma carragena, sol de sílica spindasol, gelatina e da amostra sem adição de extratos/agentes clarificantes ¹.



¹ Resultados expressos em média \pm desvio padrão. As colunas seguidas por letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autoria própria (2020).

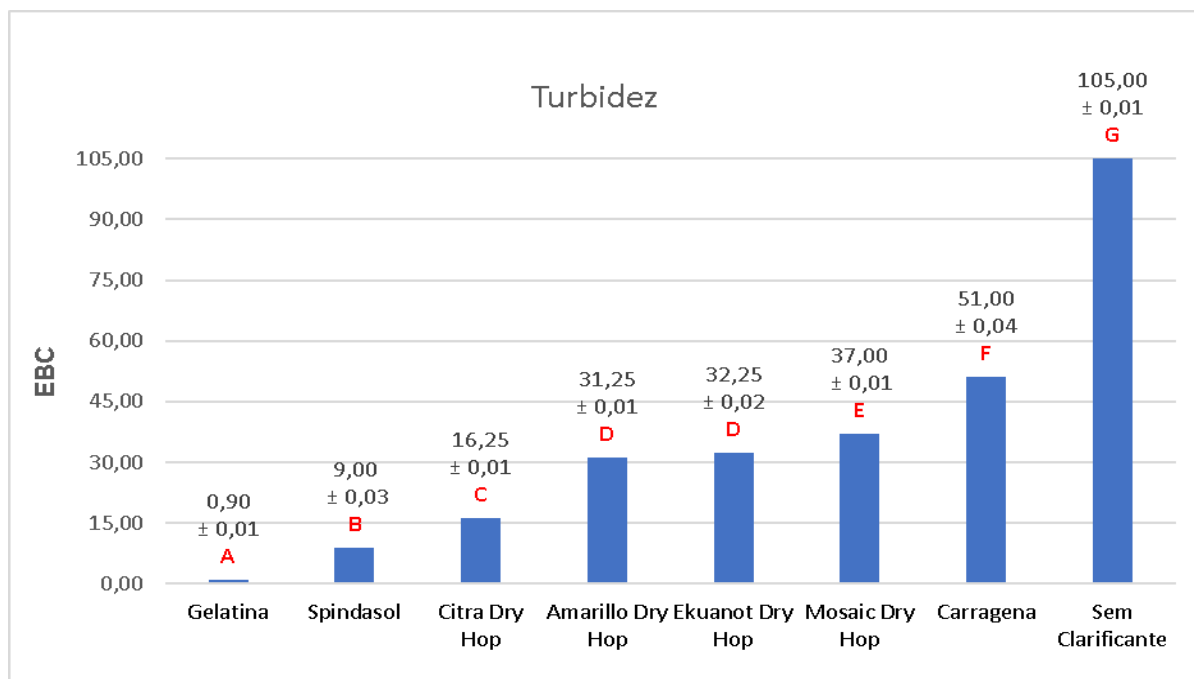
O teste de Scott - Knott separou as amostras em vários grupos distintos, sendo a amostra com adição de gelatina (grupo A) 0,080 absorbância tendo o melhor resultado para a claridade da cerveja em questão, estilo “*American Pale Ale*”, no (grupo B) com 0,120 de absorbância, demonstrando boa eficiência encontra-se o sol de sílica gel (Spindasol ®SB3) e no (grupo C) o extrato de resíduo de lúpulo citra com resultado de absorbância de 0,200. Os demais extratos de lúpulos (amarillo, ekuanot e mosaic), amostra com carragena e a amostra controle sem clarificante obtiveram espectros medidos onde a absorbância foi superior a 0,230.

5.2.4 Turbidez da Cerveja

A turbidez das amostras de cervejas foi determinada utilizando um turbidímetro nefelométrico que se baseia no espalhamento da luz em um ângulo de 90° a partir de um feixe que incide em uma cubeta contendo partículas em

suspensão. Dessa forma, a turbidez está relacionada com o índice de refração da luz que é dispersa pelas partículas suspensas na amostra de cerveja.

Figura 7 - Turbidez nos extratos de lúpulos (Amarillo, Citra, Mosaic e Ekuanot), e dos clarificantes goma carragena, sol de sílica spindasol, gelatina e da amostra sem adição de extratos/agentes clarificantes convertida para escala (EBC) European Brewing Convent ¹.



¹ Resultados expressos em média ± desvio padrão. As colunas seguidas por letras iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Autoria própria (2020).

Para a avaliação da turbidez, o teste de Scott - Knott separou as amostras em vários grupos distintos conforme a Figura 7, sendo o grupo A (gelatina) com 0,90 EBC, grupo B (sol de sílica Spindasol ®SB3) 9,0 EBC , grupo C (extrato de lúpulo citra) 16,25 EBC, os demais grupos apresentaram resultados acima de 30 de EBC e a amostra controle sem adição de clarificantes com 105 EBC.

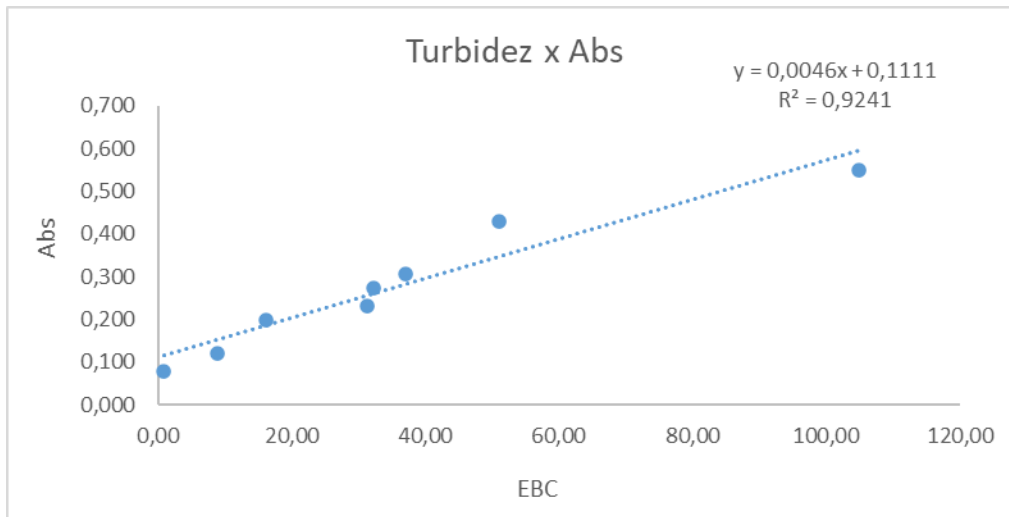
Os resultados de turbidez e claridade das cervejas que continham gelatina, sol de sílica (Spindasol ®SB3) e o extrato de lúpulo Citra, apresentaram resultados atraentes, podendo estes compostos definidos como agentes clarificadores, serem utilizados na etapa de maturação da cerveja, visando a finalização correta da clarificação da cerveja antes da etapa de acondicionamento.

5.2.5 Correlação Entre Métodos de Claridade e Turbidez

A turbidez via método nefelométrico com turbidímetro e a análise de claridade determinada por espectrofotometria em absorvância a 600 nm, mostram resultados com unidades de medidas diferentes, porém ambos podem ser usados para avaliar o mesmo atributo que é a claridade da cerveja.

Na Figura 8 temos uma correlação entre as análises de turbidez nefelométrico e claridade a 600 nm.

Figura 8 - Correlação entre a claridade determinada em espectrofotômetro a 600 nm e a turbidez determinada com turbidímetro nefelométrico.



Fonte: Autoria própria (2020).

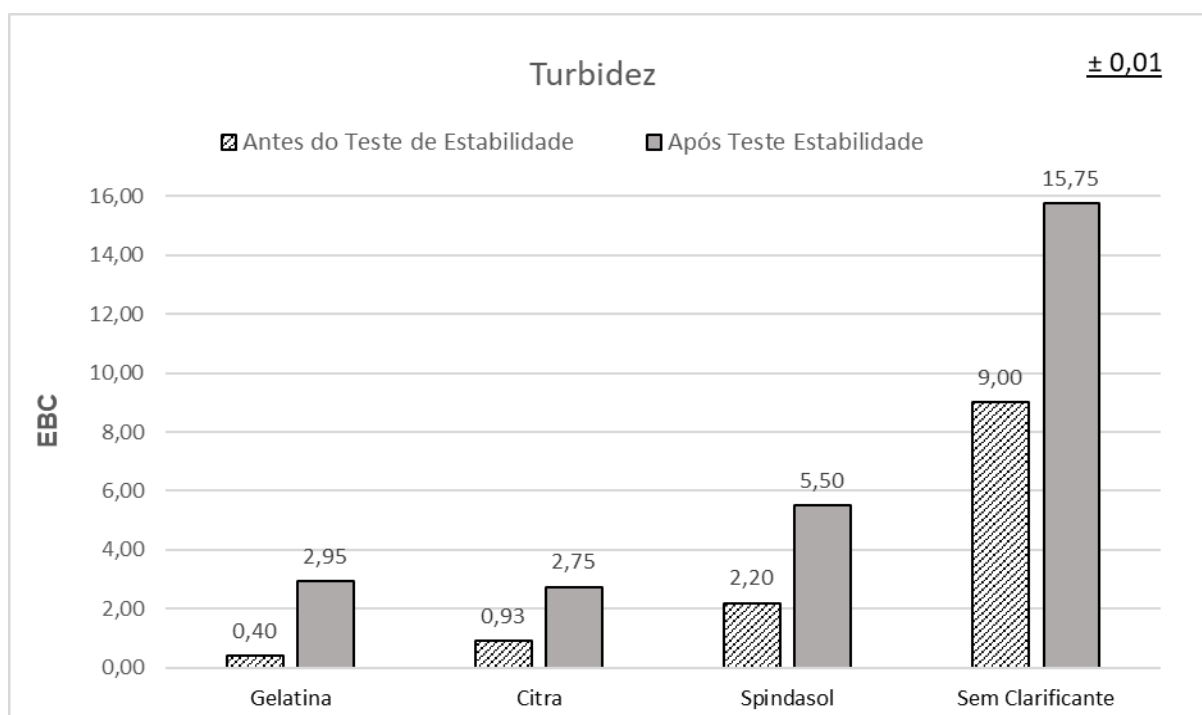
Observa-se uma correlação linear entre as medidas de turbidez (EBC) no eixo "x" e claridade (ABS) no eixo "y", com valor de $R^2 = 0,9241$. Tendo em vista essa correlação, pode ser utilizado um espectrofotômetro simples no lugar do turbidímetro com a vantagem do espectrofotômetro poder ser usado para a quantificação de proteínas e das proantocianidinas.

5.3 ESTABILIDADE COLOIDAL PELO TESTE PREDITIVO DE VIDA DE PRATELEIRA

Durante a vida de prateleira, as garrafas ou latas de cerveja são expostas a condições extremas, por exemplo, a mudança brusca de temperatura. Essa mudança desestabiliza o sistema coloidal propiciando a formação de complexos proteínas e compostos fenólicos gerando a turbidez. Os polifenóis estão presentes na cevada e no lúpulo, e são extraídos durante o processo de produção do mosto, com as proteínas da cevada (GRESSER, 2009).

Na Figura 9 são apresentados os resultados da turbidez nas cervejas que foram clarificadas com gelatina, extrato de resíduo de lúpulo citra, sol de sílica gel (Spindasol ®SB3) e amostra controle sem adição de agentes clarificantes. As medições ocorreram nas cervejas antes e depois do ciclo de aquecimento e resfriamento.

Figura 9 - Teste Preditivo de Vida de Prateleira



Fonte: Autoria própria (2020).

Todas as amostras tiveram um aumento na turbidez ($p < 0,05$) após o teste de estabilidade. Os maiores incrementos foram observados nas amostras sem

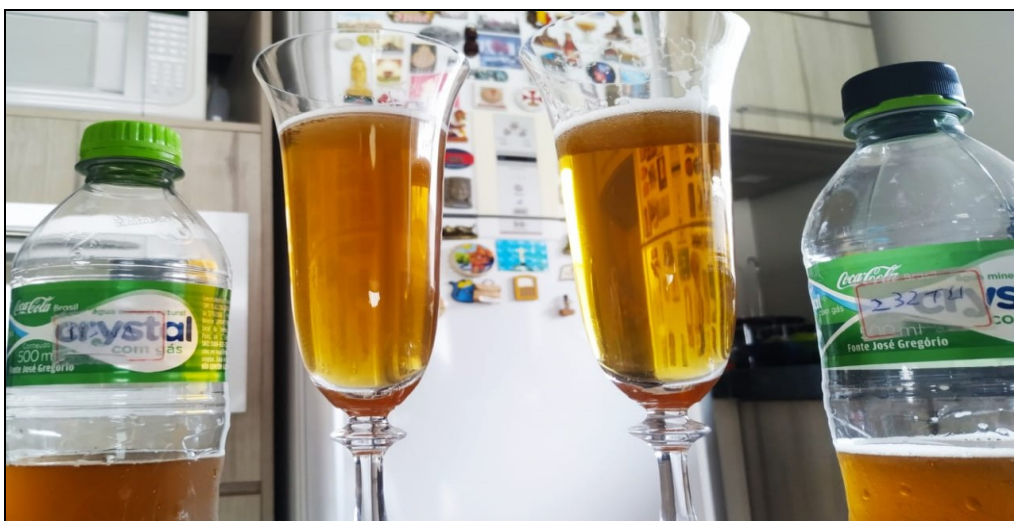
clarificante (9,0 para 15,75) e com sol de sílica gel (2,20 para 5,50). Os resultados da amostra clarificada com extrato de resíduo de lúpulo Citra, antes e depois do teste de estabilidade não diferiram ($p > 0,05$) em relação à cerveja clarificada com gelatina, e a turbidez ao final da avaliação foi inferior a 3,0 EBC. Esse resultado mostrou que com o uso do extrato de lúpulo citra se obtém cervejas claras (item 5.2.3), coloidalmente estáveis e límpidas.

5.4 ANÁLISE SENSORIAL

Conforme apresentado em *Material e Métodos* (item 4.2.8), os testes foram realizados visando avaliar os atributos qualitativos da cerveja clarificada com extrato de resíduo de lúpulo citra (Identificação da amostra 489/232 TU) e da cerveja sem adição de agentes clarificantes (Identificação da amostra 152/113 NA).

Na percepção dos avaliadores as aparências de ambas as cervejas são semelhantes, com características de cor dourada, brilhante e límpida, apenas se diferem em média-turbidez e translucidez, observados respectivamente na cerveja sem clarificante e na cerveja com extrato de lúpulo Citra, conforme Figura 10.

Figura 10 - Amostras de cerveja sem adição de clarificantes (esquerda) e com adição de extrato de resíduo de lúpulo citra (direita).



Fonte: Autoria própria (2020).

No atributo aroma, as duas amostras de cervejas foram similares, ambas apresentam notas de panificação/casca pão, baixo ésteres, baixa percepção de lúpulo floral e aroma frutado remetendo a pêssego.

Para o atributo sabor notou-se que as cervejas se caracterizam por serem refrescantes e equilibradas entre os sabores do malte e do lúpulo, houve uma percepção de uma acidez considerada média-baixa na cerveja clarificada com o extrato de resíduo de lúpulo citra, logo, na amostra sem adição de clarificante foi percebido leve adstringência.

Outro atributo avaliado foi a sensação na boca ao tomar a cerveja e após ingeri-lo. A sensação de adstringência foi notada com maior intensidade na cerveja sem adição de agentes clarificantes, enquanto que, ambas apresentam retrogosto maltado lembrando cereais e panificação; são cervejas cremosas e macia com intensidade baixa no amargor final.

Como impressão geral foi relatado, pelos provadores, que as amostras de cervejas não apresentaram defeitos, são de boa qualidade, refrescante e possuem *drinkabilidade* (agradável de beber), os aromas e sabores remetem a panificação e cereais, ainda comentam que a amostra de cerveja sem adição de clarificantes apresenta turbidez média-baixa, já a amostra clarificada com extrato de resíduo de lúpulo citra nota-se brilhante, translúcida e com percepção de acidez média-baixa. Todos os comentários relatados pelos provadores nas súmulas de avaliação para os atributos, aparência, aroma, sabor, sensação na boca e impressão geral estão descritos nos Anexos 2 e 3.

6 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo indicam que:

A mistura etanol//água na proporção (v/v) 1:1 foi a que propiciou a maior extração de proantocianidinas dos resíduos de lúpulos.

Os extratos aplicados nas cervejas em concentração padronizada de proantocianidinas (3,49 mg/L) promoveram redução dos teores de proteínas e de compostos fenólicos, aumentaram clarificação e diminuíram a turbidez, no entanto, o efeito não foi igual em todos os extratos, sugerindo que além do teor de proantocianidinas, outro fator como a composição do extrato pode influenciar no desempenho.

O extrato do resíduo de lúpulo citra apresentou a capacidade de redução de proteínas, de compostos fenólicos, da turbidez e aumento da claridade com desempenho global próximo do clarificante sol de sílica gel.

A cerveja contendo o extrato do resíduo de lúpulo citra apresentou propriedade de estabilização coloidal similar à gelatina e superior ao sol de sílica gel.

A avaliação sensorial mostrou que a cerveja clarificada com o extrato de lúpulo citra teve atributos sensoriais similares à cerveja controle sem clarificante, porém a primeira foi menos adstringente, mais clara e límpida.

REFERÊNCIAS

- AEB BIOQUÍMICA LATINO AMERICANA S.A. **Ficha Técnica**. Disponível em: <https://www.aebgroup.com/media/catalogs/br/cerveja/produtos/estabilizantes/clarificantes/spindaso%20sb3/spindasol_sb3_tds_pt_0040416_beer_brazil.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- ALBUQUERQUE, C.M.; **Clarificação de suco de laranja “core wash” por processo de flotação auxiliado por enzimas pectinolíticas e agentes clarificantes**, 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2009.
- ALMEIDA, A.R.; **Compostos Bioativos do Bagaço de Malte: Fenólicos, Capacidade Antioxidante in Vitro e Atividade Antibacteriana**, 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- ANDRADE, C.J.; MEGA, J.F.; NEVES, E.; A Produção da Cerveja no Brasil. **Revista Hestia Citino**. Joinville. v. 1, n. 1, p. 21-29, 2011.
- AQUARONE, E.; **Biotecnologia industrial**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.
- ARAÚJO, G.S.; **Elaboração de uma cerveja ale utilizando melão de caroá [*sicana odorífera (vell.) naudim*] como adjunto do malte**, 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.
- ASANO, K., SHINAGAWA, K., HASHIMOTO, N. Characterization of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation. **American Society of Brewing Chemists**. Japão. v. 40, n. 4, p. 147-154, 1982.
- BAMFORTH, C. Cooking and chilling: the brewhouse. In: BAMFORTH, C. **Beer: tap into the art of science of brewing**. 2. ed. Oxford: University Press, 2003. cap. 6. p. 139-140
- BARBOZA, L. M. V; FREITAS, R. J. S; WASZCZYNSKYJ, N. Desenvolvimento de produtos e análise sensorial. **Revista Online Brasil Alimentos**, Curitiba. v. 18, n.18, p. 34-35. 2003.

BEECHER, G.R.; Proanthocyanidins: Biological Activities Associated with Human Health. **Pharmaceutical Biology**, Maryland. v. 42, n.5, p. 2-20. 2004.

BOLINI, H.M.A.; MACEDO, G.A.; SIQUEIRA, P.B.; O Processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. **Alimentação Nutricional**. Araraquara. v. 19, n. 4, p. 491-498. 2008.

BOTELHO, B.G.; **Perfil e Teores de Aminas Bioativas e Características Físico Químicas em Cervejas**, 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas, Minas Gerais, 2009.

BRADFORD, M.M.; A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**. v. 72, n. 1, p. 248-254. 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 65 de 10 de Dezembro de 2019. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-65-de-10-de-dezembro-de-2019.pdf/view>>. Acesso em: 12 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 54 de 05 de novembro de 2001. Adota o Regulamento Técnico MERCOSUL de Produtos de Cervejaria**. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-54-de-5-de-novembro-de-2001.pdf/view> >. Acesso em: 12 jan. 2020.

BRIGGS. D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. Wort boiling, clarification, cooling and aeration. In: BRIGGS. D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. **Brewing: science and practice**. Cambridge, CRC Press, 2004. cap. 10, p. 372.

CARVALHO, G.B.M.; BENTO, C.V.; ALMEIDA e SILVA, J.B. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª. Parte- As leveduras. **Revista Analytica**, Lorena. v. 25, p. 36-42. 2006.

DALE, C.J.; TRAN, H.T.N; LYDDIATT, A. Studies on the mechanism of action of copper fining agents (k carrageenan). Copyright - **Journal of the Institute of Brewing**. Great Britain. v. 102. p. 285-289. 1995.

DINNELA, C.; RECCHIA, A.; FIA, G.; BERTUCCIOLI, M.; MONTELEONE, E. Saliva Characteristics and Individual Sensitivity to Phenolic Astringent Stimuli. **Chemical Senses**. Oxônia. v. 34. p. 295-304. 2009.

DJAGNY, K. B.; WANG, Z.; XU, S. Gelatin: A valuable protein for food and pharmaceutical industries: **Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Massachusetts. v. 41, n. 6, p. 481-492. 2001.

DURELLO, R.S.; SILVA, L.M; JR, S.B.; Química do Lúpulo. **Química Nova**. São Carlos. v. 42, n. 8, p. 900-919. 2019.

DUTCOSKY, S. D.; **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba, Champagnat, 2013. cap. 3, p. 91-226.

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

EATON, B. An Overview of Brewing. In: PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. 2 ed. Florida: CRC Press and Taylor & Francis Group, 2006. cap. 3, p. 77-89.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION (1997). Analytica EBC, Section 9 Beer Method 9.30, **Prediction of Shelf-Life of Beer**, Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, Germany.

ES-SAFI, N.E.; GUYOT, S.; DUCROT, P.H.; NMR, ESI/MS, and MALDI-TOF/MS Analysis of Pear Juice Polymeric Proanthocyanidins with Potent Free Radical Scavenging Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Morocco. v. 54, n. 19, p. 6969-6977. 2006.

FANI, M. Carragena. **Aditivos e ingredientes**. São Paulo. v. 395, n. 1, p. 27-34. 2003.

FRAZIER, R.A; DEAVILLE, E.R; GREEN, R.J; STRINGANO, E; WILLOUGHBY, I; PLANT, J; MUELLER-HARVEY, I.; Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Reading. v. 51, p. 490-495. 2010.

GADON, A; LINFORTH, R; HARDING, S.E; COOK, D.; Characterisation of high molecular weight hop proanthocyanidins using Analytical Ultracentrifugation. **Scientific Reports**. Nottingham. v. 9, n. 34, p. 1-8. 2019.

GASSARA, F.; ANTZAK, C.; AJILA, C.M.; SARMA, S.J.; BRAR, S.K.; VERMA, M; Chitin and chitosan as natural flocculants for beer clarification. **Journal of Food Engineering**, Quebec. v. 166, n. 8, p. 80-85. 2015.

GRESSER, A. Stability of beer. In: Eßlinger, H.M; **Handbook of brewing: processes, technology e markets**. Weinheim: WILEY-VCH, 2009. cap. 16, p. 399-434.

HASLAM, E.; **Plant polyphenols**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989.

HOUGH, J.S.; **The biotechnology of malting and brewing**. Cambridge: Cambridge University Press, 1985.

HUIGE, N.J; Brewery by-products and effluents. In: PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. 2 ed. Florida: CRC Press and Taylor & Francis Group, 2006. cap. 18, p.477-490.

JACKSON, M; **Guias: Cerveja**. 2. ed. Rio de Janeiro. Jorge Hazard, 2010.

JELINEK, L.; KARABIN, M.; KOTILIKOVÁ, B.; HUDCOVÁ, T.; DOSTÁLEK, P.; Application of a hop by-product in brewing:reduction in the level of haze-activeprolamines and improved antioxidantproperties of the beer. **The Institute of Brewing & Distilling**. London. v. 120, n. 4, p. 99-104. 2014.

JING LI, H; DEINZER, M.L.; Proanthocyanidins in Hops. **Beer in Health and Disease Prevention**. London. v. 21, p. 333-348. 2009.

KERRY INGREDIENTS & FLAVOURS. **Product specification**. Disponível em: <https://brewshop.no/images_hovedside/whirlfloc%20t%20full%20product%20specification%20feb14.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2020.

KUNZE, W.; Technology Brewing and malting. **International. Berlin: VLB** 1. ed. New Jersey: Noyes Publications, 1995.

LEIPER, K. A.; MIEDL, M. Colloidal stability of beer. In: BAMFORTH, C. W. **Beer: a Quality Perspective**. Burlington: Academic Press, 2009. cap. 4, p. 111-161

LINFORTH, R.S.T.; WESTWOOD, K.; SOMANI, A.; DOHERTY, N.; COOK, D.J.; Hop proanthocyanidins for the fining of beer. **Journal of the Institute of Brewing**. Great Britain. v.121, p. 490-495. 2015.

MATHIAS, T.R.S.; MELLO, P.P.M.; SERVULO, E.F.C. Caracterização de resíduos cervejeiros. In **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Florianópolis. v.1, n. 2, p. 1-8. 2014.

MINICERVECARIA. **Beer Gelatin**. Disponível em: <https://minicerveceria.com/clarificantes-y-aditivos/32-beer-gelatinsearch_query=beer+gelatin&results=1>. Acesso em: 10 jan. 2020.

POREDA, A; ZDANIEWICZ, M; STERCZYŃSKA, M; JAKUBOWSKI, M; PUCHALSKI, C; Effects of wort clarifying by using carrageenan on diatomaceous earth dosage for beer filtration. **Czech Journal Food Science**. Poland. v. 33, n. 4, p. 392–397. 2015.

QUEIROZ, C.R.A dos A.; MORAIS, S.A.L.; NASCIMENTO, E.A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta. **Sociedade de Investigações Florestais**. Viçosa. v. 26, n. 4, p. 485-492. 2002.

REBELLO, F.F.P; Produção de cerveja. **Revista Agrogeoambiental**. Pouso Alegre. v. 1, n. 3, p. 145-155. 2009.

RODRIGUES, A.; RICARDO-DA-SILVA, J.M.; LUCAS, C.; LAUREANO, O.; Effect of winery yeast lees on Touriga nacional red wine color and tannin evolution, **Am. J. Enol. Viticult**. Lisboa. v. 64, n. 5, p. 98-109. 2013.

RODRÍGUEZ, Y.B.; AGUILAR, I.G.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; Utilização do malte de sorgo na produção de cerveja: revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas. v. 21, n. 1, p. 1-10. 2018.

RONCONI, C.M; **Avaliação de diferentes agentes clarificantes de cerveja no processo de produção em uma microcervejaria**. 2016. Tese (Engenharia Química) - Universidade do extremo sul catarinense, Criciúma, 2016.

ROSA, N.A.; AFONSO, J.C.; A Química da Cerveja. **Química e Sociedade**. São Paulo. v. 37, n. 2, p. 98-105. 2015.

SERRANO, J; PUUPPONEN-PIMI, R; DAUER, A; AURA, A; SAURA-CALIXTO. Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. **Molecular Nutritional Food Research**. Madrid. v. 53, n. 1, p. 310-329. 2009.

SILVA, R.J.M.; RIGAUD, J.; CHEYNIER, V.; CHEMINAT, A.; MOUTOUNET, M. Procyanidin dimers and trimers from grapes seeds. **Phytochemistry**. Lisboa. v. 30, n. 4, p.1259-1264. 1991.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, S. A. Colorimetric of total phenolics with phosphomolibic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology & Viticulture**, Califórnia. v. 16, p. 144-158. 1965.

STEVENS, J.F.; MIRANDA, C.L; WOLTERS, K.R.; SCHIMERLIK, M.; DEINZER, M.L.; BULHER, D.R.: Identification and in Vitro Biological Activities of Hop Proanthocyanidins: Inhibition of nNOS Activity and Scavenging of Reactive Nitrogen Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Oregon. v. 50, p. 3435-3443. 2002.

TENGE, C; Yeast. In: Eßlinger, H.M; **Handbook of brewing: processes, technology e markets**. Weinheim: WILEY-VCH, 2009. cap. 5, p. 119-142.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de cerveja**. Jaboticabal: Funep, 2000.

VITAL, B. R; CARNEIRO, A. de C.O; PIMENTA, A.S; LUCIA, R. M. D. Adesivos à base de taninos das cascas de duas espécies de eucalipto para produção de chapas de flocos. **Sociedade de investigações florestais**. Viçosa. v. 28, n. 4, p. 571-582. 2004.

WALLACE, T. C. **Analysis of Procyanidins and Anthocyanins in Food Products using Chromatographic and Spectroscopic Techniques**, 2010. Dissertação (Doutorado) - Universidade Estadual de Ohio, Ohio, 2010.


WALKER, S. L; CAMARENA, M,C. D; FREEMAN, G. Alternatives to Isinglass for Beer Clarification. **Journal of the Institute of Brewing**. Surrey. v. 113, n. 4, p. 347-354. 2007.

ANEXOS


Anexo 1

Figura 1 – Modelo de súmula sensorial utilizada para obtenção das respostas qualitativas, avaliação do provador nº1 para a cerveja clarifica com extrato de resíduo de lúpulo citra.

05/05/20 AMOSTRA = 489/232TU



SÚMULA DE CERVEJA



Programa de competição aprovado por AHA/BJCP <http://www.homebrewersassociation.org>

Nome do Juiz (firma) SANDESON DA SILVA BANFI

ID BJCP do Juiz E3477

Email do Juiz _____

Use etiqueta autocolante

Nível ou Situação no BJCP:

Apprentice Recognized Certified
 National Master Grand Master
 Honorary Master Honorary GM Juiz de Hidromel
 Juiz Provisório Nível Pendente

Qualificações fora do BJCP:

Cervejeiro Profissional Beer Sommelier Não BJCP
 Certified Cicerone Master Cicerone
 Treinamento Sensorial Outro

Definição de Nomenclatura (Marque os que se aplicam):

Acetaldeído – Aroma e sabor como de maçã-verde.
 Alcoólico – O aroma, sabor e efeito de calor do etanol e alcoóis superiores. Às vezes descrito como “quente”.
 Adstringente – Aspreza prolongada, sensação de repuxamento e/ou seca no final/retrogosto; sensação áspera de grãos; sensação provocada pelas cascas.
 Diacetil – Aroma e sabor de manteiga artificial, *butterscotch* ou *toffee*. Às vezes percebido como sensação escorregadia na língua.
 DMS (dimetilsulfureto) – Em baixos níveis, um aroma e sabor doce parecido com milho cozido ou enlatado.
 Ésteres – Aroma e/ou sabor de qualquer éster (frutas, aromatizantes de fruta ou rosas).
 Gramíneo – Aroma/sabor de grama recém-cortada ou folhas verdes.
 Atingido por luz – Similar ao aroma de um gambá.
 Metálico – Sabor de lata, moeda, cobre, ferro ou sangue.
 Mofo – Aromas/sabores de ranço, mofo ou bolor.
 Oxidado – Qualquer sabor e aroma como de vinho, papelão, papel ou Xerez, ou uma combinação destes.
 Fenólico – Especiarias (cravo-da-índia, pimenta), fumaça, plástico, fita adesiva e/ou remédio (clorofenol).
 Solvente – Aromas e sabores de alcoóis superiores (alcoóis fusel). Similar a aromas de acetona ou *thinner*.
 Azedo/Ácido – Acidez em aroma e sabor. Pode ser intenso e limpo (ácido láctico), ou como vinagre (ácido acético).
 Enxofre – O aroma de ovo podre ou fósforos queimando.
 Vegetal – Aroma e sabor de legumes cozidos, enlatados ou apodrecidos (repolho, cebola, aipo, aspargo etc.).
 Levedura – Aroma ou sabor de pão, enxofre ou levedura.

Nº categoria _____ Subcategoria (a-f) _____ Nº Inscrição _____

Subcategoria (por extenso) AMÉRICAS PAÍS ALTO

Ingredientes especiais: _____

Inspeção da garrafa: Tamanho, tampa, enclausamento, remoção de rótulo apropriados etc.
Comentários GARRAFA 500 ML / 50 C

Aroma (conforme apropriado para o estilo) _____/12
Comente sobre malte, lúpulo, ésteres e outros aromáticos
BAIXO AROMA DE ESTERES E LÚPULO HERBAL, BAIXA PERCEPÇÃO DE LÚPULO FIORAL, MÉDIO-BAIXO MANTO, MANTO, COMO PANFLETO / CASCA, MANTO MANSO, COMBINAÇÃO MANTO E PANFLETO

Aparência (conforme apropriado para o estilo) _____/3
Comente sobre cor, limpidez e colarinho (retenção, cor e textura)
DOURADO CLARO, LIMPO E BRILHANTE, COM BOA FORMAÇÃO DE COR BRANCA COM BOLHAS MÉDIAS, MÉDIA FORMAÇÃO, MÉDIO-ALTA RETENÇÃO.

Sabor (conforme apropriado para o estilo) _____/20
Comente sobre malte, lúpulo, características da fermentação, equilíbrio, final/retrogosto e outras características de sabor
CORPO MÉDIO BAIXO, MACIO, DOCE, MÉDIO-ALTA BAIXA ADOLESCIMENTO, DOCEURA INICIAL, ALGUMAS MÉDIO-BAIXO COM FINAL EQUILIBRADO NO AMARGOR

Sensação na Boca (conforme apropriado para o estilo) _____/5
Comente sobre corpo, carbonatação, calor, cremosidade, adstringência e outras sensações palatais
RETROGOSTO MANTO, COMBINAÇÃO DE SABORES E PANFLETO. FINAL LIMPO E EQUILIBRADO COM AMARGOR DE INTENSIDADE MÉDIO-BAIXA.

Impressão Geral _____/10
Comente sobre o prazer geral de beber associado à amostra, de sugestões de melhorias
CERVEJA LEVE E REFRESCANTE, BONITA, LIMPO E BRILHANTE, COM BOA FORMAÇÃO E RETENÇÃO DE ESPUMA, AROMAS E SABORES REMETENDO A PANFLETO E CORUSAIS, MÉDIO-BAIXA ALGUMAS, CORPO MÉDIO-BAIXO E EXCELENTE DRINKABILITY.

Total _____/50

GUIA DE PONTUAÇÃO

Destacado	(45 - 50): Exemplo do estilo de classe mundial.
Excelente	(38 - 44): Exemplifica bem o estilo, requer mínimos ajustes.
Muito Bom	(30 - 37): Geralmente dentro dos parâmetros do estilo, algumas falhas mínimas.
Bom	(21 - 29): Erra e alvo no estilo e/ou pequenas falhas.
Razoável	(14 - 20): Sabores/aromas indesejados ou grandes deficiências de estilo. Desagradável.
Problemático	(00 - 13): Fortes aromas ou sabores indesejados predominam. Difícil de beber.

Precisão de Estilo

Exemplo Clássico Fora de Estilo

Mérito Técnico

Sem Falhas Falhas Significativas

Intangíveis

Maravilhoso Sem Vida

BJCP Beer Scoresheet Copyright © 2012 Beer Judge Certification Program rev. 120213 Traduzido por Humberto Prölich (humberto.jr@gmail.com)

Anexo 2

Tabela 1 - Avaliação sensorial qualitativa da cerveja clarificada com extrato de resíduo de lúpulo citra.

AMOSTRA	ATRIBUTOS	PROVADORES	COMENTÁRIOS
	Aroma		Baixo aroma de ésteres e lúpulo herbal, baixa percepção de lúpulo floral, médio-baixo maltado como panificação/casca, moderado adocicado lembrando mel e panificação
		*Provador 1	
		***Provador2	Um pouco aroma de levedura, mais característico da própria cerveja, nada que a desabone
		***Provador3	Cítrico, lúpulo, ésteres
		***Provador4	Aroma de panificação e baixo ésteres
		**Provador5	Floral interno, frutado remetendo a pêssego
	Aparência		Dourado claro, límpida e brilhante, espuma de cor branca com bolhas médias, média formação e retenção
		*Provador 1	
		***Provador2	Um pouco translúcido, mas de certa forma característico da cerveja, bom colarinho
		***Provador3	Amarelo pálida, turbidez baixa, característica de cerveja artesanal
		***Provador4	Cerveja límpida e dourada, bolhas pequenas e médias
		**Provador5	Dourada, trâns lucida, alta formação e persistência da espuma com bolhas de tamanho irregulares
489/232 TU	Sabor		Corpo médio-baixo, macia, refrescância média-alta, baixo aquecimento, doçura inicial, acidez média-baixa com final equilibrado no amargor
		*Provador 1	
		***Provador2	Adocicado, leve, amanteigado, pouco lupulado e bem equilibrado
		***Provador3	Cítrico, lúpulo, malte fraco
		***Provador4	Equilíbrio entre maltes e lúpulos para o estilo
		**Provador5	Leve sabor de malte deixando uma sensação de dulçor, amargor baixo, levemente resinosa, retrogosto leve
	Sensação na Boca		Retrogosto maltado, lembrando cereais e panificação. Final seco e equilibrado com amargor de intensidade média-baixa
		*Provador 1	
		***Provador2	Boa carbonatação, cremosa
		***Provador3	Corpo Leve-médio, boa carbonatação, pouco lupulada, final ligeiramente adstringente
		***Provador4	Cerveja com persistência e retrogosto de panificação na boca, agradável
		**Provador5	Macia, levemente seca, carbonatação alta
	Impressão Geral		Cerveja leve e refrescante, bonita, límpida e brilhante, com boa formação e retenção de espuma, aromas e sabores remetendo a panificação e cereais, média-baixa acidez, corpo médio-baixo e excelente drinkability
		*Provador 1	
		***Provador2	Cerveja muito boa, senti pouco lúpulo no mais é uma cerveja leve e de fácil aceitação mercadológica
		***Provador3	Cerveja de Boa Qualidade, não encontrei defeitos
		***Provador4	Cerveja com boa drinkabilidade, leve no estilo, limpa e translúcida
		**Provador5	Cerveja fácil de beber, leve e seca

Anexo 3

Tabela 2 - Avaliação sensorial qualitativa da cerveja sem adição de clarificantes.

AMOSTRA	ATRIBUTOS	PROVADORES	COMENTÁRIOS
	Aroma	*Provador 1	Baixo aroma de éster frutado, baixo lúpulo herbal e lúpulo floral, médio-baixo aroma tostado como casca/pão, moderado adocicado mel e panificação
		***Provador 2	Aroma suave, cheiro de levedura
		***Provador 3	Frutado, cítrico-pêssego
		***Provador 4	Baixo ésteres e aroma de panificação
		**Provador5	Levemente Floral, muito leve gramíneo
	Aparência	*Provador 1	Dourado claro, turbidez média-alta, espuma branca com bolhas pequenas, média formação e retenção
		***Provador 2	Límpida, pouco colarinho
		***Provador 3	Límpida, boa espuma
		***Provador 4	Cerveja levemente turva e dourada
		**Provador5	Dourada brilhante, espuma de bolha pequenas com alta formação e persistência
152/113 NA	Sabor	*Provador 1	Corpo médio-baixo, macia, refrescância média-alta, baixo aquecimento, doçura inicial - médio, acidez baixa com final equilibrado no amargor
		***Provador 2	Suave, senti pouco lúpulo, retrogosto como fumaça nada excepcional
		***Provador 3	Citrico agradável, final ligeiramente adstringente e adocicado
		***Provador 4	Equilibrado, pouca adstringência e altamente refrescante
		**Provador5	Amargor médio, retrogosto de lúpulos com característica floral
	Sensação na Boca	*Provador 1	Retro-gosto maltado, lembrando cereais e panificação, com final seco e em equilíbrio com amargor, de intensidade média-baixa
		***Provador 2	Pouco carbonatada, um pouco adstringente, cerveja simples
		***Provador 3	Corpo baixo, ligeiramente adstringente
		***Provador 4	retrogosto de malte lembrando panificação
		**Provador5	adstringente, seca, carbonatação média
	Impressão Geral	*Provador 1	Uma cerveja leve e refrescante, com moderada turbidez, boa formação e retenção de espuma. Aromas e sabores predominantes remetendo a cereais e panificação, com corpo médio-baixo e excelente drinkability
		***Provador 2	Parece uma cerveja pilsen comercial, para degustar em barzinhos
		***Provador 3	Cerveja agradável, aumentaria o corpo
		***Provador 4	Cerveja com baixa turbidez, leve e boa retenção de espuma
		**Provador5	Cerveja fácil de beber com boa refrescância

*Beer Sommelier pela Escola Superior de Cerveja e Malte/ juiz oficial Recognized BJCP (Beer Judge Certification Program) ** Beer Sommelier pela Escola Superior de Cerveja e Malte *** Apreciadores e Cervejeiros Artesanais

Anexo 4

BJCP – BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM

18B. American Pale Ale

Impressão Geral:

Uma clara, refrescante e lupulada ale, contudo com malte de apoio suficiente para fazer uma cerveja equilibrada e de drinkability. A presença de lúpulos limpos pode refletir clássicos ou modernos varietais de lúpulos americanos ou do Novo Mundo com uma vasta gama de características. Uma intensidade média de lúpulos transmitido por cervejas artesanais claras americano está presente, geralmente balanceada para ser mais acessível que as modernas American IPAs.

Aroma:

Moderado a forte aroma de varietais de lúpulos americanos ou do Novo Mundo, com uma vasta gama de possíveis características, incluindo cítricos, floral, pinho, resina, especiarias, frutas tropicais, frutas de caroço, berries ou melão. Nenhuma dessas características específicas são necessárias, mas o lúpulo deve ser aparente. Baixo a moderado maltado dá sustentação à apresentação dos lúpulos e pode mostrar, opcionalmente, pequenas quantidades de caráter de maltes especiais (de pão, torradas, biscoito, caramelo). Ésteres frutados variam de moderada a nenhum. Dry hopping (se usado) pode adicionar notas de grama verde, embora este caráter não deva ser excessivo.

Aparência:

Dourado claro a âmbar claro. Moderadamente volumosa espuma branca para bege claro, com boa retenção. Geralmente bastante límpida, embora as versões com dry-hopped podem ser um pouco turvas.

Sabor:

Moderado a alto sabor de lúpulos, geralmente indicando um caráter de lúpulos americanos ou Novo Mundo (cítrico, floral, pinho, resinoso, picante, frutas tropicais, frutas de caroço, berries, melão etc.). Baixo a moderado caráter granulado-maltado limpo dá sustentação à apresentação dos lúpulos, e pode mostrar, opcionalmente, pequenas quantidades de caráter de maltes especiais (de pão, torradas, biscoito). O balanço é normalmente em direção final aos lúpulos e amargor, mas a presença de malte presença deve ser sólida, não perdida ao fundo. Os sabores de caramelo são muitas vezes ausente ou bastante restrita (mas são aceitáveis, desde que eles não colidam e atenuem a presença dos lúpulos). Ésteres frutados de levedura podem ser moderados a nenhum, embora muitos varietais de lúpulos são bastante frutados. Moderado a alto amargor de lúpulo com um final semi-seco a seco. Sabor de lúpulo e de amargor, muitas vezes permanece no final, mas o retrogosto geralmente deve ser limpo e sem aspereza (harsh). Dry hopping (se usado) pode adicionar notas de grama cortada, embora este caráter não deve ser excessivo.

Sensação de Boca:

Corpo médio-baixo a médio. Moderada a alta carbonatação. Final geralmente macio, sem adstringência e aspereza.

Comentários:

Novas variedades de lúpulo e métodos de uso continuam a ser desenvolvidos. Os juízes devem permitir características de lúpulos modernos neste estilo, bem como variedades clássicas. A American Pale Ale tornou-se um estilo de cerveja artesanal internacional, com adaptações locais surgindo em muitos países com um crescimento vertiginoso do mercado de cerveja artesanal. Estilos lupulados podem variar desde a clássica grande adição de amargor aos exemplares mais modernos com retardada explosão da lupulagem; todas as variações são permissíveis.

História:

Uma adaptação da English Pale Ale pela moderna Escola Americana de cerveja artesanal, revelando ingredientes de terroir americano (lúpulo, malte, levedura e água). Antes da explosão da popularidade das IPAs, foi tradicionalmente a mais conhecida e popular das cervejas artesanais americanas.

Ingredientes Característicos:

Maltes claros ale, tipicamente norte-americanos duas fileiras. Lúpulos americanos ou Novo Mundo, com uma ampla gama de características admissíveis. Levedura ale americana ou inglesa (neutra a levemente frutada). Grãos especiais podem adicionar caráter e complexidade, mas geralmente correspondem a uma porção relativamente pequena do grist. Grãos que acrescentam sabor de malte e riqueza, leve dulçor, e notas de pão ou leve tostado são frequentemente usados (juntamente com lúpulo final) para diferenciação das marcas.

Comparação de Estilos:

Normalmente de cor mais clara, mais limpa em fermentação de subprodutos, e tendo menos sabores de caramelo homólogos ingleses. Pode ser que exista alguma sobreposição na cor entre American Pale Ale e American Amber Ales. As American Pale Ale americano serão, geralmente, mais limpas, com menor perfil de maltes caramelados, menos corpo, e muitas vezes mais lúpulos no final. Menos amargor no balanço e intensidade de álcool do que uma American IPA. Mais equilibrada e com maior drinkability, e menos intensidade de lúpulos e amargor do que uma American IPA com intensidade de sessão (Session IPA).

Estatísticas Vitais:

OG: 1.045 – 1.060

FG: 1.010 – 1.015

IBUs: 30 – 50

SRM: 5 – 10

ABV: 4.5 – 6.2%