UNIVERSIDADE DE UBERABA

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E EXTENSÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA
MESTRADO PROFISSIONAL

FLÁVIO ARAÚJO POUSA PAIVA

TORREFAÇÃO DE MALTES DE CEVADA PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL

UBERABA
2019

Uniube | Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós Graduação e Extensão PROPEPE

FLÁVIO ARAÚJO POUSA PAIVA

TORREFAÇÃO DE MALTES DE CEVADA PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Mestrado Profissional da Universidade de Uberaba (PPGEQ-MP/UNIUBE).

Orientadora:
Prof.ª Dr.ª Ana Cláudia Chesca
Coorientador:
Prof.º Dr. José Roberto Delalibera Finzer

UBERABA
2019

Catalogação elaborada pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

Paiva, Flávio Araújo Pousa.
P166t Torrefação de maltes de cevada para produção de cerveja artesanal / Flávio Araújo Pousa Paiva. – Uberaba, 2019.
85 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Engenharia Química, concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos Agroindustriais.
Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Chesca.
Coorientador: Prof. Dr. José Roberto Delalibera Finzer.

1. Cerveja. 2. Maillard, reação de. 3. Cevada. 4. Alimentos – Avaliação sensorial. I. Chesca, Ana Cláudia. II. Finzer, José Roberto Delalibera. III. Universidade de Uberaba. Programa de Mestrado em Engenharia Química. IV. Título.

CDD 641.873

FLÁVIO ARAÚJO POUSA PAIVA

TORREFAÇÃO DE MALTES DE CEVADA PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre Profissional em Engenharia Química do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Mestrado Profissional da Universidade de Uberaba (PPGEQ-MP/UNIUBE).

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos Agroindustriais

Aprovado em: 26 / 02 / 2019.

BANCA EXAMINADORA:

Prof.ª Dr.ª Ana Cláudia Chesca - Orientadora
Universidade de Uberaba

Prof.º Dr. José Roberto Delalibera Finzer - Coorientador
Universidade de Uberaba

Prof. Dr. Mário Sérgio da Luz
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

À minha esposa, Kellen, pelo apoio incondicional e paciência.

Agradecimentos

Agradeço à Prof.ª Ana Claudia Chesca, pela orientação e prontidão em ajudar.

Ao Prof.º José Roberto D. Finzer, pela orientação e grande incentivo.

Aos professores do programa, pelos ensinamentos e convívio.

Aos colegas de turma, pelos momentos de estudo e descontração.

À Universidade de Uberaba, pela disponibilização de espaço e equipamentos para realização do trabalho.

À FAPEMIG, pelos recursos que tornaram este trabalho possível.

Resumo

Este trabalho tem como objetivo principal o desenvolvimento de um malte especial a partir de um malte base tipo *Pilsen*. Após a umidificação, o malte *Pilsen* foi submetido à temperatura de sacarificação para ocorrer a conversão do amido em açúcares ainda dentro do grão. Seguiu-se a etapa de secagem e de torrefação utilizando um torrador de grãos com tambor rotativo. Na torrefação ocorreram as reações de Maillard e de caramelização, que dão sabor, cor e aroma característicos. Para análise dos resultados, foram produzidas cervejas utilizando 75% malte base *Pilsen* e 25% do malte torrado, que foram comparadas com cerveja produzida com 100% de malte *Pilsen*. A primeira apresentou cor acobreada intensa, aromas adocicados como de caramelo e aromas de pão e biscoito e sabor também adocicado que remete ao caramelo e açúcar torrado. Um grupo de provadores analisou sensorialmente a diferença global entre a cerveja produzida com malte *Pilsen* e as demais produzidas com malte torrado, além da aceitabilidade uma análise físico-química do teor alcóolico foi feita no produto. Não foram identificadas diferenças entre os lotes produzidos com malte torrado, e todas tiveram aceitabilidade. O teor alcóolico foi 4,29% v/v na cerveja sem maltes torrados e 4,14% v/v na que utilizou maltes torrados.

Palavras-chave: Análise sensorial. Caramelização. Reação de Maillard.

Abstract

This work has as main objective the development of a special malt from a malt base type Pilsen. After humidification the *Pilsen* malt was subjected to the saccharification temperature for the conversion of the starch into sugars still inside the grain. The drying and roasting step was followed. In the roasting process the Maillard and caramelization reactions occurred, giving characteristic flavor, color and aroma. To analyze the results, beers were produced using 75% *Pilsen* malt and 25% roasted malt, which were compared to beer produced with 100% Pilsen malt. The first one showed intense coppery color, sweet aromas like of caramel and aromas of bread and biscuit and also sweet flavor that refers to the caramel and roasted sugar. A group of tasters sensorially analyzed the global difference between beer produced with Pilsen malt and the others produced with roasted malt, besides the acceptability of each one and a physical-chemical analysis of the alcoholic content was made in the product. No differences were identified between the lots produced with roasted malt, and all had acceptability. The alcohol content was slightly higher in beer without roasted malts.

Keywords: Sensory analysis. Caramelization. Maillard Reaction.

Lista de abreviaturas e siglas

Am	Amostra
Av	Avaliador
F_c	Fator de correção
F_{cam}	Valor crítico calculado
F_V	Fonte de variação
GL	Grau de liberdade
N	Número de observações
n	Número de amostras
p	Número de avaliadores
QM	Quadrado médio
Res	Resíduo
SQ	Soma dos quadrados

Lista de figuras

Figura 1: Fluxograma da produção de cerveja 10
Figura 2: a) 2,3 butanodiona b) 2,3 pentanodiona 14
Figura 3: Furfural 18
Figura 4: Hidroximetilfurfural 19
Figura 5: Torrador de Café Carmomaq TP-1 23
Figura 6: Moedor de dois rolos Maltbite. 24
Figura 7: Trocador de calor de placas. 24
Figura 8: Controlador de temperatura *Full Gauge*®. 25
Figura 9: Laboratório de análise sensorial da UNIUBE. 31
Figura 10: Amostra do malte base, à esquerda, e do malte torrado, à direita. 38
Figura 11: À esquerda, cerveja produzida com malte torrado, à direita, cerveja produzida apenas com malte Pilsen. 38

Lista de tabelas

Tabela 1: Composição de um grão de cevada e do malte. 7
Tabela 2: Composição química do lúpulo em flor.....9
Tabela 3: Temperatura e pH de atuação das enzimas.....12
Tabela 4: Relação entre Nível de atividade enzimática e cor do malte. 16
Tabela 5: Porcentagem de álcool em volume a 20°C (% v/v) correspondente à densidade relativa. 27
Tabela 6: Valores de F_{tab} para o nível de significância de 5%.....32
Tabela 7: Valores críticos de d para teste de *Dunnett*, bilateral, nível de significância de 5%.....34
Tabela 8: Valores de q para teste de Tukey, com nível de erro de 5%. 36
Tabela 9: Massas iniciais e finais de cada torrefação 37
Tabela 10: Densidades e teor alcóolico médio das cervejas.....39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1
2 OBJETIVOS 3
3 REFERENCIAL TEÓRICO 4
3.1 CONTEXTO HISTÓRICO 4
3.2 A PRODUÇÃO DE CERVEJA NO BRASIL 4
3.3 INSUMOS 5
3.3.1 **Água** 5
3.3.2 **Malte** 7
3.3.3 **Lúpulo** 8
3.3.4 **Adjuntos** 9
3.4 ETAPAS DA PRODUÇÃO DA CERVEJA 10
3.4.1 **Moagem dos grãos** 11
3.4.2 **Mosturação** 11
3.4.3 **Filtração do mosto** 11
3.4.4 **Fervura** 12
3.4.5 **Tratamento do mosto** 12
3.4.6 **Fermentação** 13
3.4.7 **Maturação** 13
3.5 A MALTEAÇÃO DA CEVADA 14
3.5.1 **O que é o malte de cevada?** 14
3.5.2 **Maltes especiais** 17
3.5.3 **Reações químicas de escurecimento do malte** 17
3.5.4 **Principais tipos de maltes especiais** 19
3.5.5 **Produção do malte *Crystal*** 20
3.6 ANÁLISE SENSORIAL 20
4 DESENVOLVIMENTO 22
4.1 MATERIAIS 22
4.1.1 **Malte *Pilsen*** 22
4.1.2 **Torrador de grãos** 22
4.1.3 **Equipamentos para fabricação de cerveja** 23
4.1.4 **Equipamentos para determinação do teor alcóolico** 25
4.2 MÉTODOS 25
4.2.1 **Umidificação do malte *Pilsen*** 25

4.2.2 **Sacarificação e secagem do malte**.....26
4.2.3 **Torrefação do malte** 26
4.2.4 **Produção da cerveja**.....26
4.2.5 **Análise Físico química** 26
4.2.6 **Análise sensorial** 28
5 RESULTADOS 37
5.1 TORREFAÇÃO DO MALTE *PILSEN* 37
5.2 PRODUÇÃO DAS CERVEJAS 37
5.3 ANÁLISE FÍSICO QUÍMICA.....39
5.4 ANÁLISE SENSORIAL.....39
5.4.1 **Método discriminativo**.....41
5.4.2 **Método afetivo** 43
6 CONCLUSÃO 46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 47
APÊNDICE A – Estudo sobre propagação de leveduras para produção de cerveja artesanal.....49
APÊNDICE B – Notas para o teste de comparação múltipla.....55
APÊNDICE C – Valor de F_{tab} para a análise de variância. 56
APÊNDICE D – Valor crítico d para Teste Dunnet. 57
APÊNDICE E – Notas obtidas pelo teste de aceitação. 58
APÊNDICE F – Valores críticos de F_{tab} para análise de variância. 59
APÊNDICE G – Valores críticos q para o Teste de Tukey. 60
ANEXO A – Certificado de calibração do termopar INSTRUTHERM®. 61

1 INTRODUÇÃO

A produção da cerveja consiste em converter o amido presente nos grãos de cevada em açúcares que serão substrato para as leveduras durante a fermentação. Para que ocorra a conversão, o amido, inicialmente encapsulado dentro do grão, precisa ser exposto através da moagem e submetido à água aquecida na temperatura entre 60 °C e 72 °C, que vai ativar as amilases presentes no malte e que irão, então, converter o amido em açúcares fermentescíveis e não-fermentescíveis. Após isso, é necessário inativar as enzimas, aumentando a temperatura para 76 °C, para que o processo de sacarificação termine e possa ser feita a separação do bagaço e do mosto, chamada de filtragem ou lavagem. Nesta etapa, o mosto é transferido para um novo recipiente e o bagaço fica retido em um fundo falso, porém, grande porcentagem de açúcares ainda fica retidos no bagaço, sendo necessário lixiviar com água, aumentando assim a eficiência do processo. Na etapa seguinte, o mosto é submetido à fervura (ebulição), que é quando ocorre a coagulação proteica, eliminação de possíveis contaminações microbiológicas, conversão dos ácidos de amargor do lúpulo e volatilização de compostos indesejáveis. Em seguida, o mosto fervido é agitado em movimentos circulares, para que ocorra a precipitação das proteínas coaguladas e do lúpulo, formando o *trub* no fundo da panela, e, então podendo ser transferido para o tanque de fermentação. Antes da transferência, o mosto é resfriado até a temperatura de fermentação, e um aerador injeta o oxigênio necessário para o metabolismo das leveduras. Inoculado o fermento, a etapa de conversão dos açúcares fermentescíveis em álcool, CO_2 e outros compostos leva de 7 a 14 dias, quando então obtém-se cerveja, que deverá ser carbonatada, envasada e consumida.

O principal insumo responsável pela cor, sabores, aromas e teor alcoólico da cerveja é o malte de cevada, que é classificado como malte base ou malte especial. Inicialmente, a cevada é submetida a um alto teor de umidade, o que faz com que o grão germine, e, nesse processo, surgem as enzimas que serão responsáveis pela conversão do amido em açúcares, quando ativadas. O que diferencia o malte base dos maltes especiais é a etapa de secagem e/ou torrefação. Nos maltes base, chamados de *Pilsen* e *Pale ale*, não há torrefação, o malte é submetido apenas à secagem. Nos maltes especiais, antes da secagem, pode ocorrer a sacarificação do amido, e, durante a torra, a reação de Maillard e a caramelização, em diferentes graus

de acordo com os objetivos do produtor. Na primeira situação, o grão ainda úmido, é submetido a temperaturas de ativação das amilases, que irão realizar a sacarificação do amido ainda dentro do grão, fazendo com que ele passe a conter um alto teor de açúcar. Posteriormente, ele é submetido à secagem, em temperaturas próximas à 90 °C e depois torrado. Durante a torra, de acordo com as diferentes temperaturas, tem-se a predominância ou das reações de Maillard ou da caramelização do açúcar dentro do grão, o que irá resultar em grãos com diferentes potenciais sensoriais.

Do exposto, o desenvolvimento de maltes especiais é de grande importância para a indústria cervejeira, permitindo que se disponibilize produtos diferenciados ao consumidor. Então, cabe às maltearias desenvolver um produto que permita a repetibilidade das formulações, e buscar inovações para que se atenda a crescente demanda de novos sabores e aromas.

Sendo assim, este trabalho propõe o desenvolvimento de maltes especiais a partir do malte comercial *Pilsen*, a partir de sua umidificação, sacarificação, secagem e torrefação.

2 **OBJETIVOS**

Os objetivos deste trabalho são desenvolver um malte especial em pequena escala, utilizando malte de cevada e um torrador de grãos; produzir lotes de cerveja com o malte torrado; comparar sensorialmente a cerveja produzida com e sem o malte torrado e avaliar sua aceitação comparando seus teores alcóolicos.

3 **REFERENCIAL TEÓRICO**

3.1 CONTEXTO HISTÓRICO

Historicamente, a cerveja se originou na Babilônia, onde já se utilizava a cevada maltada em 6000 a.C. No Egito, a cerveja se tornou popular e passou a fazer parte do cotidiano do povo, sendo distribuída à população em eventos religiosos ou como forma de pagamento por serviços. Até então, a cerveja era produzida da fermentação dos cereais, e conduzida por padeiros, pois estes tinham experiência com grãos e leveduras. Buscando uma padronização e maior controle sobre a produção, no século XVI, na Alemanha, foi aprovada a Lei *Reinheitsgebot*, que decreta que a cerveja deveria ser produzida somente com o uso de água, cevada e lúpulo, e como ainda não havia o conhecimento da levedura, inicialmente ela não constava na lei. No Brasil, a cerveja foi introduzida pelos portugueses no século XIX, e pouco depois surgiu a primeira cervejaria brasileira (VENTURINI FILHO, 2010).

3.2 A PRODUÇÃO DE CERVEJA NO BRASIL

Inicialmente, é importante entender o que é, legalmente, considerado cerveja no Brasil. De acordo com a legislação brasileira “Cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo” (BRASIL, 2009). Porém, o mesmo decreto permite que o mosto cervejeiro tenha até 45% de adjuntos que substituem o malte de cevada, sendo eles a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, maltados ou não-maltados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal.

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a produção mundial de cerveja esteve em ascensão nas últimas décadas, e, seguindo essa tendência, o consumo brasileiro também vem crescendo. Há poucos anos o Brasil passou a ocupar o terceiro lugar na produção mundial de cerveja, com a marca de 140 milhões de hectolitros, ficando atrás apenas da China, com 460 milhões de hectolitros, e dos Estados Unidos, com 221 milhões de hectolitros, ou 22,1 milhões de

m³ (MARCUSSO, MULLER; 2018). O crescimento exponencial da produção nacional de cerveja pode ser visto no Gráfico 1:

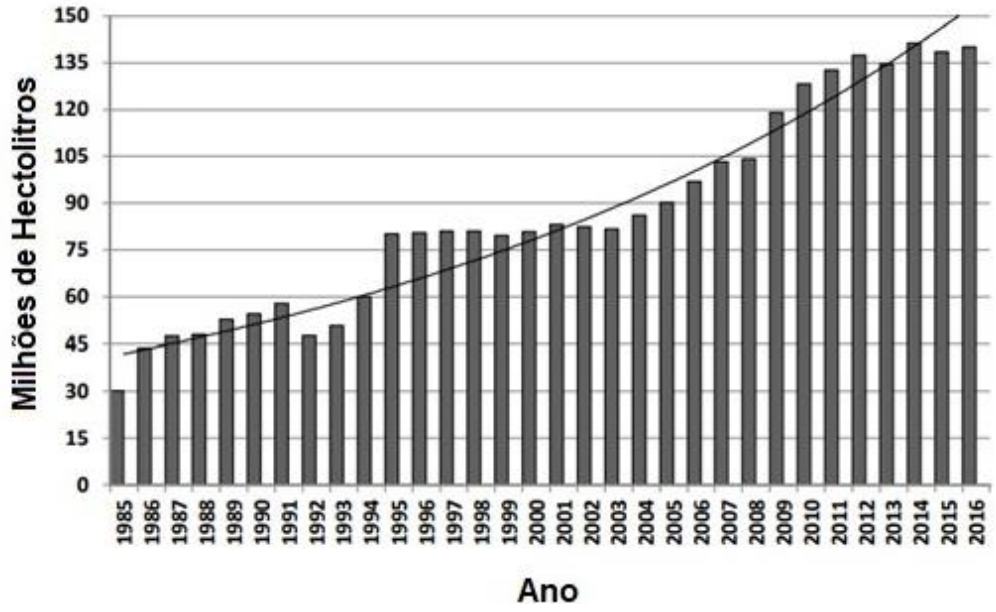


Gráfico 1: Produção nacional de cerveja em milhões de hectolitros por ano.
Fonte: Marcusso; Muller (2018).

Além do crescimento da produção de cerveja em volume, tem chamado atenção o grande número de novas cervejarias artesanais no país. Isto é evidenciado pela crescente concessão de registros à novas fábricas e consequentemente produtos. Segundo dados do Anuário de Cerveja no Brasil, ao final de 2017 existiam um total de 679 estabelecimentos funcionando legalmente no país, tendo eles um total de 8903 produtos registrados, enquanto em 2010 existiam menos de 100 estabelecimentos, de acordo com o Gráfico 2 (MARCUSSO; MULLER, 2018).

3.3 INSUMOS

3.3.1 **Água**

A água é o insumo mais abundante em uma cerveja, chegando a 90% de sua composição, porém, talvez seja o mais negligenciado pela maioria dos cervejeiros.

Pois, ao contrário dela, todos os outros insumos têm novas variedades a cada ano, sempre buscando levar inovações ao mercado, (PALMER; KAMINSKI, 2013).

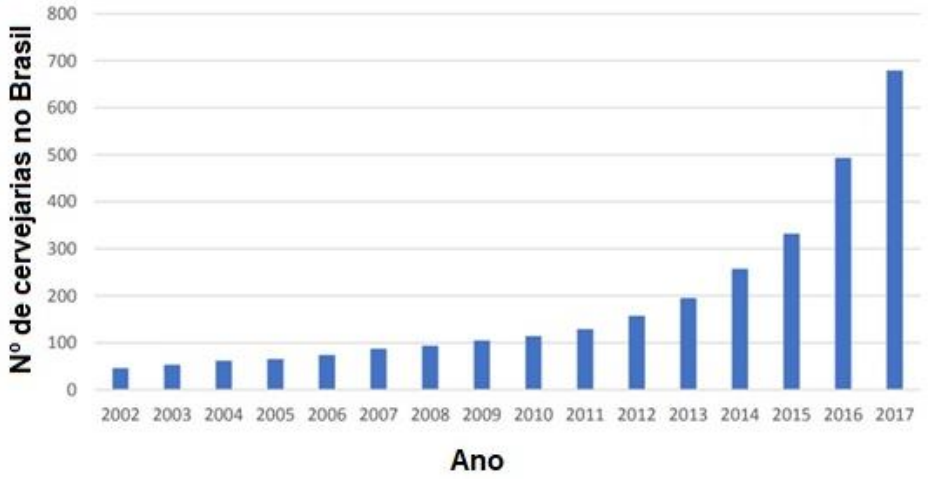


Gráfico 2: Total de cervejarias por ano no Brasil.
Fonte: Marcusso; Muller (2018).

Até pouco tempo, acreditava-se que a água deveria apenas ser cristalina, de alcalinidade menor que 50 ppm, e ter entre 50 e 100 ppm de cálcio. E por muitos séculos isso realmente bastou, porém com a criação de novos estilos de cerveja, percebeu-se que esses parâmetros não eram suficientes ou não atendiam as expectativas. Sendo assim, muitos estilos surgiram devido às propriedades da água da região de onde era produzida, sendo impossível reproduzi-los em outras regiões.

Atualmente o controle sobre as propriedades físico-químicas da água é amplo, podendo-se reproduzir os parâmetros de pH, cálcio, magnésio, entre outros, de maneira relativamente simples e barata. Sendo assim, a água na maioria das vezes é negligenciada por falta de conhecimentos, e não recursos (PALMER; KAMINSKI, 2013).

As águas utilizadas na indústria de cerveja, de um modo geral, vêm de poços artesianos ou da rede pública, e deve ser constantemente submetida à testes físico-químicos, como de teor de sais minerais e pH, e análises sensoriais quanto à cor, sabor, turbidez, e micro biologicamente, quanto à sua potabilidade (VENTURINI FILHO, 2010).

3.3.2 **Malte**

Malte é o produto resultante da germinação controlada de qualquer cereal (cevada, arroz, trigo, sorgo). O malte mais utilizado na cerveja é o de cevada, porém, não é o único, sendo o malte de trigo o segundo mais utilizado (VENTURINI FILHO, 2010).

O malte proporciona à cerveja as principais características que podem ser percebidas sensorialmente pelo consumidor, como a cor, sabor, aromas, corpo e viscosidade, sendo assim, ele pode ser considerado o protagonista na maioria dos estilos populares atualmente (MALLET, 2014).

A transformação do grão de cevada em malte ocorre na maltaria, sob condições de controladas de temperatura, umidade e aeração, e interrompendo a germinação assim que ela inicia. O amido presente no grão malteado têm cadeias menores que na cevada, tornando-o menos duro e mais solúvel, e possuindo enzimas no interior do grão que são inerentes ao processo da fabricação da cerveja. A Tabela 1 mostra a composição média de um grão de cevada antes e depois da maltagem (VENTURINI FILHO, 2010).

Tabela 1: Composição de um grão de cevada e do malte.

Características	**Cevada**	**Malte**
Massa do grão (mg)	32-36	29-33
Umidade (%)	10-14	4-6
Amido (%)	55-60	50-55
Açúcares (%)	0,5-1,0	8-10
Nitrogênio Total (%)	1,8-2,3	1,8-2,3
Nitrogênio Solúvel (% de N total)	10-12	35-50
Poder Diástatico (°Lintner)	50-60	100-250
α-milases (unidades de dextrinas)	traços	30-60
Atividade proteolítica	traços	15-30

Fonte: Adaptada de Venturini Filho (2010).

Ao selecionar o malte para uma formulação, o cervejeiro deve ter em mente toda a experiência que ele deseja que o consumidor tenha e saber como alcançar os parâmetros desejados através de combinações de diversas variedades de maltes, que

podem resultar em uma bebida complexa, ou ainda utilizar apenas um tipo de malte, tendo uma cerveja mais simples do ponto de vista sensorial. Além disso, a proporção de malte utilizado na produção da bebida irá impactar diretamente no teor alcoólico, visto que aumenta o potencial fermentativo do mosto (MALLET, 2014).

3.3.3 **Lúpulo**

O lúpulo é uma planta que é adicionada na etapa de fervura para dar amargor e aromas típicos da cerveja. Por ser uma planta de difícil cultivo, devido suas necessidades climáticas, o Brasil ainda não é produtor em larga escala, tendo as cervejarias que importar todo o lúpulo que utilizam. A substância responsável pelo amargor é chamada lupulina, e a responsável pelos aromas são os óleos essenciais, e estão presentes na flor do lúpulo produzido pelas plantas fêmeas, por isto, a flor é a parte da planta utilizada na produção da cerveja (VENTURINI FILHO, 2010).

O lúpulo pode ser comercializado na forma de flores secas (*in natura*), pélete ou extratos, e são classificados como lúpulos de amargor ou de aroma de acordo com suas características predominantes devido sua composição química. A Tabela 2, apresenta a composição química do lúpulo em flor (VENTURINI FILHO, 2010).

Os óleos essenciais, as substâncias minerais, os polifenóis e as resinas amargas são as substâncias mais importantes do lúpulo, pois os lipídios, proteínas e celulose são insolúveis, e então não contribuem para o processo cervejeiro. O óleo essencial, por ser solúvel em álcool, irá contribuir (HIERONYMUS, 2012). Apesar de serem altamente voláteis, ocorrendo perdas acima de 95% no processo, durante o processo de fervura e fermentação, os óleos essenciais conferem ao mosto e à cerveja o caráter aromático do lúpulo. Os polifenóis melhoram a estabilidade do sabor do lúpulo devido suas propriedades antioxidantes, que suprimem a formação de compostos indesejáveis do envelhecimento da cerveja (HIERONYMUS, 2012). As resinas apresentam α-ácidos e humulonas, que se tornam solúveis durante a fervura e conferem o sabor amargo à cerveja. Sendo assim, a lupulagem é uma parte fundamental do processo e confere características únicas ao produto (VENTURINI FILHO, 2010).

3.3.4 **Adjuntos**

Os adjuntos são definidos como carboidratos não maltados ou como fontes não maltadas de açúcares fermentáveis e são utilizados com o objetivo de reduzir os custos com matéria-prima, visto que os adjuntos utilizados são produzidos em território nacional (D'AVILA; et. al., 2012). Os adjuntos cereais mais comuns são o milho, o arroz e o trigo, os quais são adicionados na fase de preparação do mosto cervejeiro utilizando-se das enzimas contidas no próprio malte para hidrolisar o amido existente nos açúcares fermentescíveis (ALMEIDA & SILVA, 2005).

Tabela 2: Composição química do lúpulo em flor.

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

Fonte: Venturini Filho (2010).

As enzimas desdobram o amido contido no próprio malte e podem ainda hidrolisar o correspondente a 50% do peso de malte em forma de complemento acrescentado ou adjunto cereal, sendo necessário quando acima deste limite à adição de enzimas suplementares (ALMEIDA & SILVA, 2005).

Quando da utilização de adjuntos na forma de açúcares, seja na forma desidratado como cristais ou na forma de xaropes concentrados, há vantagens sobre os cereais, como por exemplo, baixos teores de proteínas, menores volumes de armazenamento além de nenhum pré-tratamento como a sacarificação. Porém, em altas concentrações, o uso de adjuntos pode causar problemas, como a lentidão na

fermentação. Entretanto, com o avanço da tecnologia de processos enzimáticos, foi possível obter adjuntos a base de maltose derivados do milho, contendo perfis de carboidratos, como por exemplo, o xarope de alto teor de maltose (*high maltose*). Estes novos produtos permitiram a introdução de adjuntos sem alterar a composição em carboidratos do mosto e, consequentemente, evitaram maiores dificuldades na sala de preparação de mosto, na fermentação e na maturação. Em análises sensoriais realizadas na cerveja produzida utilizando o xarope de alto teor de maltose como adjunto ao malte não foram verificadas diferenças significativas em relação a outras cervejas obtidas em processos tradicionais (ALMEIDA & SILVA, 2005).

3.4 ETAPAS DA PRODUÇÃO DA CERVEJA

A produção de cerveja, de modo tradicional, pode ser dividida em oito etapas básicas. São elas: moagem dos grãos, mosturação, filtração do mosto, fervura, tratamento do mosto (retirada de precipitado, resfriamento e aeração), fermentação, maturação e, em uma minoria de tipos de cerveja, a clarificação. A Figura 1 ilustra a sequência do processo da produção de cerveja.

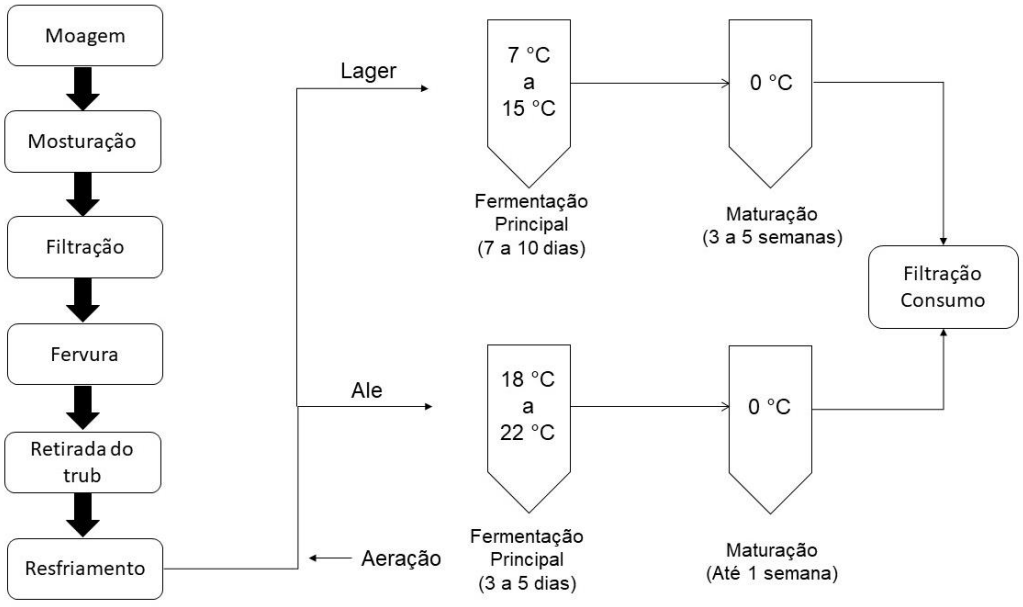


Figura 1: Fluxograma da produção de cerveja
Fonte: Adaptado de Venturini Filho (2010)

3.4.1 **Moagem dos grãos**

A moagem do malte é feita com moedor de rolos e influencia diretamente a velocidade do processo físico-químico, o rendimento, a clarificação e a qualidade da cerveja. O objetivo é expor o endosperma e desintegrá-lo, para uma maior atuação enzimática, porém deve-se evitar a formação de farinha, o que faz com que se forme uma pasta, causando problema na filtração (VENTURINI FILHO, 2010).

3.4.2 **Mosturação**

Na mosturação, o malte moído é adicionado à água em uma temperatura pré-estabelecida, e tem por objetivo solubilizar as substâncias do malte que já são solúveis, e com auxílio das enzimas, solubilizar as insolúveis, para posteriormente ocorrer a hidrólise do amido a açúcares (ALMEIDA & SILVA, 2005).

A determinação de tempos e temperaturas da mosturação dependem do perfil de cerveja esperado, pois causam influência na quantidade de açúcares fermentescíveis e de proteínas com diferentes pesos moleculares que podem resultar em diferentes teores alcoólicos e consistência da espuma, isto porque diferentes enzimas atuam em diferentes parâmetros de temperatura, como mostra a Tabela 3.

Para verificar se todo o amido foi hidrolisado, um teste com iodo é feito. A cadeia da amilose, de forma helicoidal, tem a capacidade inserir o iodo, gerando uma coloração azul (ELIASSON, 2004). Caso a solução não fique azul, a temperatura é elevada para 76 ºC, a fim de desnaturar as enzimas e encerrar esta etapa (VENTURINI FILHO, 2010).

3.4.3 **Filtração do mosto**

Nesta operação, o mosto é separado do bagaço do malte em um recipiente com um disco filtrante e agitador. A filtração é feita com escoamento pela própria casca do malte, e após isso ela é lavada com água à 76 °C para extrair os açúcares retidos, e aumentar a eficiência do processo (ALMEIDA & SILVA, 2005).

Tabela 3: Temperatura e pH de atuação das enzimas.

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

Fonte: Venturini Filho (2010).

3.4.4 **Fervura**

Esta etapa tem por objetivo a inativação de enzimas, a coagulação de proteínas, a isomerização dos ácidos de amargor do lúpulo, evaporação da água excedente e de substâncias que geram aromas indesejáveis (ALMEIDA & SILVA, 2005).

O lúpulo pode ser adicionado em qualquer momento da fervura (ebulição), sendo que o amargor irá aumentar diretamente com o tempo de exposição dos ácidos com a alta temperatura. A quantidade irá variar de acordo com o perfil desejado pelo cervejeiro, e, caso fique com amargor abaixo do desejado, é possível corrigir com extrato de lúpulo após a fermentação. A fervura do mosto pode durar entre 60 e 90 minutos, a depender da concentração de açúcar desejada (ALMEIDA & SILVA, 2005).

3.4.5 **Tratamento do mosto**

Após a fervura, a primeira etapa é forçar a precipitação das proteínas coaguladas, lúpulo e outros sedimentos (*trub*), e isso é feito através de uma rotação forçada por pás giratórias. Com o *trub* ao fundo do recipiente, o mosto é succionado por uma bomba, e alimentado em um trocador de calor de placas, até a temperatura da fermentação. Na saída do trocador de calor, no mosto frio, é injetado oxigênio, visando obter uma concentração de 20 ppm no tanque de fermentação (VENTURINI FILHO, 2010).

3.4.6 **Fermentação**

A fermentação tem como objetivo converter os açúcares em etanol e gás carbônico, e o fermento deve fornecer ao mosto entre 10^6 e 10^8 células/mL. Todos os carboidratos fermentescíveis são metabolizados pela levedura e vários subprodutos se desenvolvem, alguns permanecendo na cerveja, como ésteres, e outros são assimilados pela própria levedura (ALMEIDA & SILVA, 2005).

No processo de fabricação da cerveja, a Saccharomyces cerevisiae é uma levedura que tem apresentado um destaque nos diversos processos fermentativos em função de sua capacidade de converter açúcares em etanol, ácidos orgânicos e gás carbônico. O desempenho das leveduras cervejeiras na fermentação é influenciado e controlado por vários fatores: cepa de levedura empregada, a tolerância ao estresse pelas células de levedura, a viabilidade e a vitalidade das células, a concentração celular do inoculo, a concentração e a natureza do nitrogênio assimilável, a variedade e a concentração de açúcares no mosto, a disponibilidade de íons metálicos, temperatura, pH, oxigênio dissolvido e a densidade do mosto (CHESCA; PAIVA; FINZER, 2017), e estes fatores que determinam a intensidade dos subprodutos gerados na fermentação, que podem trazer sabor e aromas desejáveis ou não à cerveja. O estudo completo sobre estes fatores está no Apêndice A.

3.4.7 **Maturação**

A maturação, ou fermentação secundária, demanda um tempo maior que a fermentação primária, podendo ser de uma semana a alguns meses, a depender do tipo de cerveja. Nesta etapa, o principal objetivo é que compostos indesejados, principalmente o diacetil (2,3 butanodiona), Figura 2a, e a 2,3 pentanodiona, Figura 2b, sejam reduzidos pela levedura (VENTURINI FILHO, 2010).

Além disso, na maturação, onde a cerveja permanece em tanques sob baixas temperaturas, é favorecida a precipitação de leveduras e proteínas, além de alterações químicas que melhoram o sabor. Também são formados nesta etapa ésteres responsáveis por aromas e sabores característicos da cerveja, sendo eles o acetato de etila e o acetato de amila (VENTURINI FILHO, 2010).

a) b)

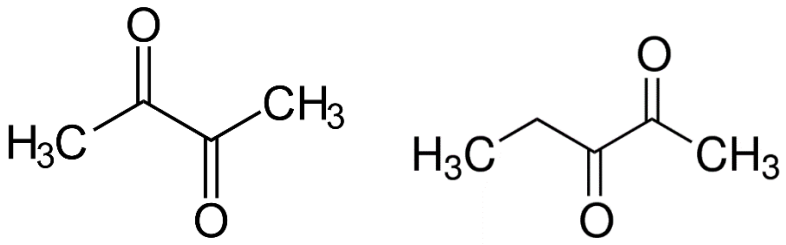


Figura 2: a) 2,3 butanodiona b) 2,3 pentanodiona
Fonte: Venturini Filho (2010).

3.5 A MALTEAÇÃO DA CEVADA

3.5.1 **O que é o malte de cevada?**

Após a colheita, o grão de cevada é geralmente armazenado de um mês a um ano, para que seja quebrada a dormência natural antes do início da malteação. O grau de dormência depende de vários fatores, entre eles o ambiente de crescimento e a variedade do cereal. Já existem técnicas para quebrar a dormência artificialmente aquecendo o grão por um determinado tempo (KULP; PONTE, 2000).

As complexas mudanças que ocorrem durante a malteação são chamadas de modificação, e incluem degradação das paredes celulares, solubilização das proteínas, e produção das enzimas amilases que serão utilizadas durante a mosturação. Uma das principais mudanças é a hidrólise dos β-glucanos, que compõe até 70% da parede celular da cevada. Caso a modificação do grão não tenha terminado completamente ou sido feita de maneira inadequada, irá resultar em um malte que causará problemas na mosturação e na cerveja, como baixa eficiência, filtração lenta e uma cerveja de aparência turva (KULP; PONTE, 2000).

O processo de malteação consiste basicamente em quatro etapas, que são maceração, germinação, secagem do grão e descanso do malte.

3.5.1.1 **Maceração**

Esse processo consiste na hidratação da cevada para que ela germine. Ao fornecer água suficiente, há uma rápida absorção, porém sem excesso, o que poderia

causar uma redução no vigor da germinação devido à inibição da transferência de oxigênio ao embrião. As funções da maceração, uma vez que a água foi absorvida pelo grão, incluem o alongamento celular, respiração, e a atividade secretora do embrião e ativação das enzimas. O endosperma deve estar suficientemente hidratado para a que estas enzimas hidrolisem as reservas de alimento do endosperma. Quando o grão está hidratado e o embrião começa a criar raízes, ele é retirado da água e levado à segunda etapa de processamento (KULP; PONTE, 2000).

3.5.1.2 **Germinação**

A germinação na etapa de malteação envolve a fase de crescimento do grão, e é a etapa que mais demanda tempo. O método mais comum atualmente consiste na utilização de grandes recipientes abertos, com fundo falso e profundidade de aproximadamente 1,0 a 1,5 metros. Para retirar o calor da respiração dos grãos, ar à uma temperatura entre 10 °C e 18 °C escoa de baixo para cima no leito de grãos e a umidade relativa é mantida acima dos 90% por *sprays* d'água, além de fornecer oxigênio e evitar que o grão fermente "azede" (KULP; PONTE, 2000).

O malteiro deve equilibrar a qualidade, as características da germinação, e a umidade do grão em conjunto com a temperatura de germinação, aplicações de água, e o tempo dos ciclos de germinação para produzir o malte verde com as características desejadas antes de ir para o forno (KULP; PONTE, 2000).

3.5.1.3 **Secagem**

O objetivo da secagem é de encerrar a germinação e as modificações do grão, reduzir a umidade do grão para armazenamento, e desenvolver aromas e sabores ao malte. Considerando os parâmetros de temperatura, tempo, umidade relativa e volume de ar escoando através do leito de grãos, o malteiro determina as características finais do malte. Grandes volumes de ar quente e seco produzem um malte de cor leve com alto poder diástatico, enquanto um volume reduzido de ar quente e úmido circulando no secador irá "ensopar" o malte e produzir cores intensas e sabores de malte torrado, porém diminuirá o nível de atividade enzimática (KULP; PONTE, 2000).

A relação entre nível de atividade enzimática e a cor do malte e seu extrato são mostrados na Tabela 4.

A etapa inicial de secagem no secador é para retirar a maioria da umidade da semente, de maneira que não desnature as enzimas, assim, utilizando temperaturas baixas, entre 40 °C e 65 °C. A torrefação ocorre logo depois, e é responsável pela maioria das cores e sabores produzidos pelo malte. Para maltes de coloração leve, são usadas temperaturas de torra entre 75 °C e 100 °C. Após isso, o malte é resfriado por ar frio e, se estiver dentro dos padrões de qualidade, levado para o descanso (KULP; PONTE, 2000).

Tabela 4: Relação entre Nível de atividade enzimática e cor do malte.

Tipo do malte	**Atividade Enzimática**	**Cor**
Pilsen	Alta	Leve
Pale Ale	Alta	Leve
Munich	Média	Moderada
Cara-Pils	Média	Moderada
Amber	Média	Moderada
Caramelo	Baixa	Intensa
Crystal	Baixa	Intensa
Chocolate	Baixa	Intensa
Black	Baixa	Intensa

Fonte: Adaptado de Kulp; Ponte (2000).

3.5.1.4 **Descanso do malte**

Esta é uma etapa importante para o malte utilizado na cerveja, e tem o objetivo de, através da difusão da água, balancear a umidade do grão, que foi desequilibrada durante a secagem e torrefação. O grão recém torrado tem umidade entre 3 e 5% de umidade, sendo que tem a parte mais externa seca, entre 1 e 3% de umidade e o núcleo relativamente úmido, entre 5 e 8% ou mais. Se esse grão for moído imediatamente após a torrefação, irá produzir uma mistura entre uma farinha muito

fina e seca e grandes grumos com grande umidade. Isto poderia causar vários problemas na cervejaria, como baixa eficiência e filtração ineficiente. Por isso, o malte deve ter um período de descanso de até um mês antes do uso pelos cervejeiros (KULP; PONTE, 2000). Com isso ocorre uniformização da umidade no grão.

3.5.2 **Maltes especiais**

A grande maioria dos maltes base é feito para suprir os elementos essenciais para produzir cerveja, como os açúcares, nitrogênio e a base de sabor maltado, e são eles o Malte *Pilsen* e o Malte *Pale Ale*. Maltes especiais adicionam diversidade e complexidade à cerveja. Grãos variados, diferentes processos, e ingredientes adicionais podem criar muitos tipos de maltes que mudam e realçam vários aspectos da cerveja pronta (MALLET, 2014).

Os variados sabores de malte caramelizado e torrado são criados em mudanças no processo. A mesma cevada que produz o malte especial pode ser utilizada para a produção do malte base. Os sabores e aromas característicos dos maltes especiais vêm principalmente das reações de Maillard (MALLET, 2014).

Alguns maltes especiais requerem o uso de equipamento especializado. Tambores rotativos são recomendados para o processo, assim como se usa para o café. O cilindro rotativo aquecido gira em torno de 30 rpm, fazendo com que o material se misture uniformemente (MALLET, 2014).

Aquecer o malte verde, fresco do leito de germinação, faz com que a água do grão evapore, e se o tambor tiver saída de ar, a umidade irá diminuir, e o malte irá secar e tostar. Se a saída de ar do tambor for vedada, a umidade ficará retida, o que é comumente praticado quando se faz maltes caramelizados (MALLET, 2014).

3.5.3 **Reações químicas de escurecimento do malte**

O escurecimento químico se dá a partir de reações que geram pigmentos escuros, de coloração marrom, chamados de melanoidinas. Em várias situações, como no caso do malte, o escurecimento químico é desejável e induzido propositalmente. Outros exemplos são a fabricação de pães, café, amendoim e batata

frita, porém, também ocorre indesejavelmente, como em sucos concentrados de frutas e nas frutas desidratadas. Os principais tipos de escurecimento do malte são a Reação de Maillard e a Caramelização (GAVA; et. al., 2008).

3.5.3.1 **Reação de Maillard ou Escurecimento não enzimático**

Em geral, o escurecimento dos alimentos acontece devido à reação entre um açúcar e um aminoácido, e é chamada de Reação de Maillard, ou de escurecimento não enzimático, para diferenciá-la das reações protagonizadas por enzimas (FENNEMA; et. al., 2010).

Os açúcares redutores reagem de modo reversível com a amina para formar uma base de *Schiff*, sofrendo o rearranjo de Amadori (isomerização da aldosilamina N-substituida), a degradação de Stecker (perda de CO_2) e resultando com a formação de pigmentos escuros. Na Figura 3, o Furfural, é uma substância intermediária do processo, que poderá produzir melanoidinas (FENNEMA; et. al., 2010).

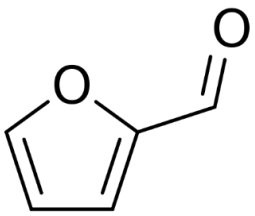


Figura 3: Furfural
Fonte: Fennema; et. al. (2010)

A velocidade da reação de Maillard é afetada principalmente pela temperatura e pH, tendo velocidade máxima em pH entre 6,0 e 7,0 (GAVA; et. al., 2008).

3.5.3.2 **Caramelização**

A caramelização acontece quando açúcares ou ácidos são aquecidos a temperaturas relativamente altas, entre 130°C e 170°C. O aquecimento causa a

desidratação da molécula de açúcar com a introdução de ligações duplas ou a formação de anéis anidro, formando compostos de aroma e sabor. Hidroximetilfurfural, Figura 4, consiste em um composto intermediário, e origina melanoidinas através de polimerização (FENNEMA; et. al., 2010).

A intensidade do escurecimento pode ser controlada alterando temperatura, pH, teor de umidade e minimização dos reagentes (GAVA; et. al., 2008).

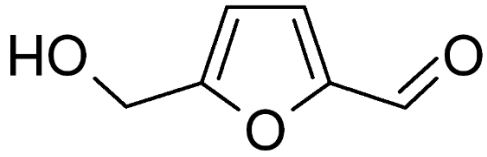


Figura 4: Hidroximetilfurfural
Fonte: Fennema; et. al. (2010)

3.5.4 **Principais tipos de maltes especiais**

3.5.4.1 **Maltes caramelo**

Para fazer maltes caramelo, o malteiro começa com malte verde, coletado diretamente do leito de germinação, totalmente modificado, mas ainda úmido. Elevando a temperatura para faixas da atuação enzimática, a sacarificação efetivamente ocorre com o grão ainda dentro da casca, quebrando proteínas em aminoácidos e amido em açúcares. Aumentando a temperatura, reações de Maillard e caramelização se iniciam, formando vários compostos destas reações. Quando ocorre a etapa de caramelização de maneira acentuada, o malte é chamado comercialmente de *Crystal,* pois a sua estrutura interna fica vitrificada, com aparência de um cristal (MALLET, 2014).

3.5.4.2 **Maltes torrados**

Maltes torrados necessitam de um tambor rotativo devido às altas temperaturas envolvidas no processo. Estes têm sabores que somente se desenvolvem em altas temperaturas, como notas de café e chocolate. A faixa de temperatura que separa os maltes caramelo dos torrados não é bem definido, porém a transição começa entre 160°C e 170°C (MALLET, 2014).

O tambor rotativo também pode ser usando para os maltes caramelo, porém necessitam de maior habilidade devido à grande quantidade de energia térmica fornecida aos grãos (MALLET, 2014).

3.5.5 **Produção do malte *Crystal***

Para produzir o malte Crystal, o malte verde úmido (aproximadamente 40% de umidade) deve ser aquecido até 70 °C em 15 minutos. A conversão do amido em açúcar se completa após 40 a 45 minutos, e a fase de secagem se inicia. Por duas horas, a temperatura dos grãos permanece relativamente baixa e a água permanece evaporando. Quando a umidade chega na faixa dos 15%, a cor começa a mudar e quando chega a 8% a cor muda rapidamente. O malte *Crystal* deve chegar a uma temperatura máxima em torno de 190 °C, que é quando o açúcar condensa em uma estrutura cristalizada que dá ao malte este nome. Nesta temperatura, poucos minutos podem fazer grandes diferenças na escala de cor do malte, por isso o operador deve sempre estar retirando amostrar e analisando visualmente para determinar quando interromper o processo (MALLET, 2014).

3.6 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial é usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações obtidas a partir dos sentidos da visão, tato, olfato, audição e paladar, segundo a ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). Determinadas características de alimentos ou bebidas definem sua qualidade e aceitação, características como textura, sabor ou aroma. Diversas aplicações podem se associar a análise sensorial

como desenvolvimento de um novo produto ou melhoramento, redução de custos, influência da embalagem no produto, controle de qualidade, entre outros.

A análise sensorial é realizada com provadores, uma vez que não há instrumentos capazes de substituir inteiramente os sentidos humanos. Através da visão é possível analisar cor, transparência, brilho ou forma, e por meio dela tem-se as primeiras impressões. Através do olfato reconhece-se odores, tanto os desejáveis quanto indesejáveis. Quando o alimento entra em contato direto com a pele do indivíduo, ou seja, pelo tato, a textura, que é considerada como grau de dureza, pode ser facilmente avaliada. Essa mesma textura também pode ser percebida através da audição, como os ruídos produzidos pela quebra de um biscoito, por exemplo. O paladar, ou sabor, é uma resposta a percepções de aroma, gosto e outras sensações bucais, e envolve cinco gostos (compostos não voláteis dos alimentos) primários: doce, salgado, ácido, amargo e umami. O aroma envolve paladar e olfato, quando compostos voláteis presentes no alimento passam pela boca e são reconhecidos por células receptoras olfativas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Diversos testes podem ser aplicados aos alimentos ou bebidas, de acordo com cada finalidade. Estes testes estão divididos por métodos:

Discriminativo: estabelece diferença qualitativa e/ou quantitativa, indicando se há diferença entre as amostras, e delimita a percepção de sensações;

Descritivo: descreve qualitativa e/ou quantitativamente as amostras, avaliando por escalas de atributos e de proporção, descreve odor, sabor e mede intensidade de uma sensação;

Afetivo: mostra a opinião pessoal do provador, preferência e aceitação.

4 **DESENVOLVIMENTO**

4.1 MATERIAIS

4.1.1 **Malte *Pilsen***

Utilizou-se Malte *Pilsen* importado, da marca *Castle Malting*®, como base para a criação dos maltes especiais. Esse malte tem umidade máxima de 4,5%, tem 90% dos grãos acima de 2,5 mm e tem coloração pós-fermentação de 6 EBC.

4.1.2 **Torrador de grãos**

Para a torra do malte, utilizou-se um torrador de grãos, que utiliza o sistema de tambor rotativo semelhante ao das maltarias, porém em menor escala.

O torrador é da marca Carmomaq®, modelo TP1, conforme Figura 5, possui um tambor acoplado a um motor de 1/3 cv de potência para rotação, aquecido à GLP, fornecendo 14.600 kJ/h. A máquina processa até 500 g de grãos por ciclo, possuindo sistema de sucção de fumaça e de películas e bandeja de resfriamento rápido (CARMOMAQ, 2018)

O termômetro analógico do torrador foi substituído por um digital, tipo K com *datalogger*, da marca INSTRUTHERM®, modelo TH-1600, com certificado de calibração nº 89674/18, ANEXO A. O instrumento foi calibrado em três faixas de temperatura, sendo elas -20,0 °C, 500,0 °C e 1000,0 °C, tendo uma incerteza de ±1,0°C.

Durante a torra, o registro do escoamento de ar deve estar aberto para a sucção de fumaça e películas, e quando finalizado a etapa deve-se fechá-lo e abrir o registro do resfriador, despejando os grãos para que sejam resfriados.



Figura 5: Torrador de Café Carmomaq TP-1
Fonte: Carmomaq. Disponível em: http://www.carmomaq.com.br/

4.1.3 **Equipamentos para fabricação de cerveja**

Para a produção da cerveja conforme as etapas citadas na Seção 2.4, utilizou-se os seguintes equipamentos:

- Moedor de 2 rolos da marca *Maltbite*®, com rolos de 80 mm, e diâmetro de 40 mm, conforme Figura 6.
- Tina de mostura de alumínio, de 15 litros.
- Tina de alumínio, de 15 litros, com fundo filtrante para filtração e lavagem.
- Tina de alumínio, de 20 litros, para fervura.
- Densímetro com escala de 1,0 $g.cm^{-3}$ a 1,1 $g.cm^{-3}$, calibrado a 20 °C.
- Termômetro digital, com resolução de 0,1 °C, de -50 a 105 °C.
- Trocador de calor de 30 placas, com área de troca de calor 0,69 m², capacidade de até 5 kW, Figura 7.

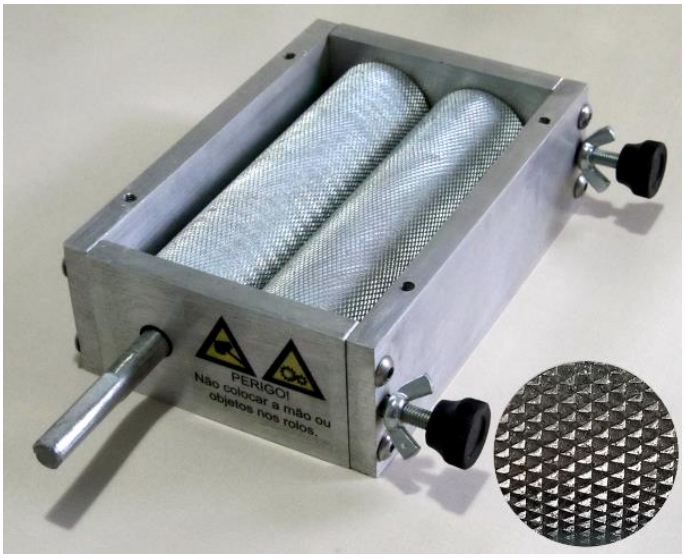


Figura 6: Moedor de dois rolos Maltbite.
Disponível em https://www.maltbite.com



Figura 7: Trocador de calor de placas.
Disponível em: https://loja.weconsultoria.com.br/chiller-de-placas-trocador-de-calor-p45161/

- Fermentador de polietileno para fermentação com saída para CO_2.
- Freezer comum, com controlador de temperatura da marca *Full Gauge*®, modelo MT512E, Figura 8, para fermentação e maturação, resolução de 0,1 ºC.



Figura 8: Controlador de temperatura *Full Gauge*®. Disponível em: https://loja.weconsultoria.com.br/controlador-de-temperatura-mt512e-2hp-p45216/

4.1.4 **Equipamentos para determinação do teor alcóolico**

Para determinar o teor alcóolico em volume, foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Conjunto de destilação.
- Chapa de aquecimento.
- Termômetro.
- Balança analítica.
- Balão volumétrico de 100 mL.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 **Umidificação do malte *Pilsen***

O malte *Pilsen* foi imerso em água a temperatura ambiente, ficando de molho por 4 horas, até que o grão absorvesse água e atingisse 50% (base úmida) de umidade (COGHE et al., 2006). Em média, a água absorvida é igual a massa do grão seco.

4.2.2 **Sacarificação e secagem do malte**

O malte *Pilsen* úmido foi submetido a temperatura de sacarificação (70 °C) no torrador de grãos por 60 minutos, em 10 bateladas de 500 g (limite do torrador) para que ocorresse a conversão do amido em açúcares. Então, a temperatura foi elevada para que a água evaporasse (COGHE et al., 2006). Durante a fase de secagem a temperatura do torrador permaneceu entre 95 °C e 100 °C.

4.2.3 **Torrefação do malte**

Após redução da umidade, aumentou-se a temperatura até 150 °C, permanecendo assim por 10 min para que ocorressem as reações de Maillard e caramelização (COGHE et al., 2006). No fim do processo, resfriou-se o material utilizando o resfriador do próprio torrador.

4.2.4 **Produção da cerveja**

Seguindo as etapas citadas na Seção 2.4, produziu-se três mostos com 75% malte *Pilsen* (1,5 kg) e 25% malte torrado (0,5 kg), 3,50 g de lúpulo, que fermentou à temperatura de 18 °C, por 6 dias, com uso de 5,0 g do fermento *safale* US-05® da marca Fermentis®, que possui um perfil neutro, para não interferir na análise sensorial (COGHE et al., 2006). Para efeito de comparação, produziu-se um mosto com 100% de malte *Pilsen* (2,0 kg) e 3,50 g de lúpulo sob mesmas condições de produção e fermentação (COGHE et al., 2006).

As duas cervejas maturaram à temperatura de 1 °C por 5 dias, e foram envasadas em garrafas de vidro com 6 g/L de açúcar para produção de CO_2 e, consequentemente, gaseificação da bebida (PALMER, 2006).

4.2.5 **Análise Físico química**

O teor de álcool em volume foi determinado a partir do método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (p. 457, 2008), onde amostras de 100 mL de cerveja foram descarbonatadas em um béquer com o auxílio de um bastão. Utilizando

um conjunto de destilação, ¾ do volume foi destilado e completado com água até o volume de 100 mL. Com o auxílio do picnômetro e da balança analítica, a densidade relativa desta solução a 20 °C foi obtida e, utilizando-se a Tabela 5, obteve-se o teor de álcool em volume.

Tabela 5: Porcentagem de álcool em volume a 20°C (% v/v) correspondente à densidade relativa.

D 20°C/20°C	% v/v	D 20°C/20°C	% v/v	D 20°C/20°C	% v/v	D 20°C/20°C	% v/v
1,00000	0,0	0,99632	2,5	0,99281	5,0	0,98956	7,5
0,99985	0,1	0,99618	2,6	0,99268	5,1	0,98944	7,6
0,99970	0,2	0,99603	2,7	0,99255	5,2	0,98931	7,7
0,99955	0,3	0,99589	2,8	0,99241	5,3	0,98919	7,8
0,99939	0,4	0,99574	2,9	0,99228	5,4	0,98906	7,9
0,99924	0,5	0,99560	3,0	0,99215	5,5	0,98893	8,0
0,99910	0,6	0,99546	3,1	0,99201	5,6	0,98881	8,1
0,99895	0,7	0,99531	3,2	0,99188	5,7	0,98869	8,2
0,99880	0,8	0,99517	3,3	0,99174	5,8	0,98857	8,3
0,99866	0,9	0,99503	3,4	0,99161	5,9	0,98845	8,4
0,99851	1,0	0,99489	3,5	0,99148	6,0	0,98833	8,5
0,99836	1,1	0,99475	3,6	0,99135	6,1	0,98820	8,6
0,99821	1,2	0,99461	3,7	0,99122	6,2	0,98807	8,7
0,99807	1,3	0,99447	3,8	0,99109	6,3	0,98794	8,8
0,99792	1,4	0,99433	3,9	0,99096	6,4	0,98782	8,9
0,99777	1,5	0,99419	4,0	0,99083	6,5	0,98770	9,0
0,99763	1,6	0,99405	4,1	0,99070	6,6	0,98758	9,1
0,99748	1,7	0,99391	4,2	0,99057	6,7	0,98746	9,2
0,99733	1,8	0,99377	4,3	0,99045	6,8	0,98734	9,3
0,99719	1,9	0,99363	4,4	0,99032	6,9	0,98722	9,4
0,99704	2,0	0,99349	4,5	0,99020	7,0	0,98710	9,5
0,99689	2,1	0,99336	4,6	0,99007	7,1	0,98698	9,6
0,99675	2,2	0,99322	4,7	0,98994	7,2	0,98686	9,7
0,99661	2,3	0,99308	4,8	0,98981	7,3	0,98674	9,8
0,99646	2,4	0,99295	4,9	0,98969	7,4	0,98662	9,9

Fonte: Instituto Adolfo Lutz, 2018.

4.2.6 **Análise sensorial**

4.2.6.1 Método discriminativo por teste de comparação múltipla

O teste de comparação múltipla ou diferença do controle, avalia uma ou mais amostras para determinar se existe diferença entre a amostra padrão (P) e as demais, e pode ainda ao mesmo tempo avaliar esse grau de diferença (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Este teste é indicado principalmente para avaliar um único atributo sensorial.

Para a realização do teste foram recrutados 15 avaliadores não treinados de ambos os sexos, maiores de 18 (dezoito) anos de idade, que gostam de cerveja artesanal, têm interesse e disposição para participar, não apresentem algum tipo de alergia aos ingredientes presentes na cerveja e que não estejam resfriados/gripados. Os avaliadores foram orientados a não comer ou fumar 30 minutos antes do teste, não utilizar perfume e não conversar ou ver o teste dos outros para que não influencie nas respostas. Inicialmente foi entregue a cada avaliador o termo de participação espontânea, Quadro 1, e um questionário para coletar algumas informações pessoais, Quadro 2.

Cada avaliador recebeu 3 amostras-teste codificadas com números aleatórios de três dígitos e uma amostra padrão (P), dispostas em copos descartáveis transparentes contendo 30 mL de cerveja. As amostras foram apresentadas de forma simultânea, ou seja, mais de uma amostra por vez, se encontravam a 8 °C, e foram mantidas sob refrigeração durante 24 horas.

O teste foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da UNIUBE. Os avaliadores analisaram as amostras em cabines individuais, que dispunham de cadeira, boa iluminação e não havia contato com o preparo das amostras, como mostrado na Figura 9.

O provador deveria avaliar e dar valores as amostras-teste, comparando-as à padrão, através da escala numérica de grau de diferença, como apresentado na Ficha 1. As amostras 1, 2 e padrão são de diferentes lotes da cerveja produzida com malte torrado, ao passo que a amostra 3 foi a produzida apenas com malte *Pilsen*.

Universidade de Uberaba
Pró- Reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Extensão
Programa de Pós-graduação em Engenharia Química
Mestrado Profissional

Termo de participação espontânea

I-DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

Nome do avaliador: .....
Documento de identidade: ..... Data de nascimento: ...../...../.....
Endereço: .....
Bairro: ..... Cidade: .....
Telefone: .....

II-EXPLICAÇÕES FORNECIDAS AO AVALIADOR

1. Esta pesquisa tem como finalidade analisar cerveja artesanal produzida a partir de diferentes torras de malte;
2. Será realizada degustação de cerveja artesanal;
3. Os dados pessoais fornecidos não serão utilizados ou divulgados.

III- CONSENTIMENTO

Declaro que, após esclarecimento apresentado pelo pesquisador e compreendido o que foi dito, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Uberaba, ... de ..... de .....

_____
Assinatura do avaliador

Quadro 1 – Termo de participação espontânea no processo de análise sensorial.
Fonte: Autor (2019).

Universidade de Uberaba
Pró- Reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Extensão
Programa de Pós-graduação em Engenharia Química
Mestrado Profissional
Questionário

As informações aqui prestadas serão confidenciais, não sendo repassado para pessoas que não estejam diretamente envolvidas na pesquisa do referido projeto.

Nome: .....

Por favor, responda às perguntas:

1.Idade:
( ) menos de 18 anos ( ) 36 a 45 anos
( ) 18 a 25 anos ( ) 46 a 50 anos
( ) 26 a 35 anos ( ) mais de 50 anos

2. Grau de escolaridade:
( ) 1° grau incompleto ( ) 2° grau completo
( ) 1° grau completo ( ) superior incompleto
( ) 2° grau incompleto ( ) superior completo

3. Qual sua frequência de consumo de bebidas alcóolicas:
( ) inferior a 1 vez por mês ( ) 1 vez por semana
( ) 1 a 3 vezes por mês ( ) superior a 1 vez por semana

4. Qual sua frequência de consumo de cerveja:
( ) inferior a 1 vez por mês ( ) 1 vez por semana
( ) 1 a 3 vezes por mês ( ) superior a 1 vez por semana

5. Você já teve conhecimento ou contato com a produção de cerveja?
( ) Sim ( ) Não

6. Você é alérgico a algum tipo de alimento ou bebida?
( ) Sim ( ) Não
Quais: .....
.....

7. Indique se você possui:
( ) Diabetes ( ) Hipoglicemia
( ) Hipertensão ( ) Complicações bucais ou uso de dentadura

Quadro 2 – Questionário para maiores informações dos avaliadores.
Fonte: Autor (2019).



Figura 9: Laboratório de análise sensorial da UNIUBE.
Fonte: Autor (2019).

.

Avaliador: _____

Data:_____/_____/_____

Você está recebendo uma amostra padrão (P) e três amostras codificadas. Compare cada uma com o controle. Expresse o valor da diferença utilizando a escala abaixo:

(1) nenhuma
(2) ligeira
(3) moderada
(4) muita
(5) extrema

Amostras: ( )_____
( )_____
( )_____

Ficha 1 – Teste de comparação múltipla
Fonte: Autor (2019).

Através da análise de variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla de médias, conforme Quadro 3 e Tabela 6, respectivamente, pode-se interpretar os dados.

FV	GL	SQ	QM	Fc
Amostra (am)	(n-1)	SQ_{am}	$SQ_{am}/n-1$	QM_{am}/QM_{res}
Avaliador (av)	(p-1)	SQ_{av}	$SQ_{av}/p-1$	QM_{av}/QM_{res}
Resíduo (res)	(N-1)-(n-1)-(p-1)	SQ_{res}	$SQ_{res}/N-n-p+1$	-
Total	(N-1)	SQ_{total}	-	-

Quadro 3 – Análise de variância (ANOVA).
Fonte: Instituto Adolfo Lutz (p. 304, 2008).

Tabela 6: Valores de F_{tab} para o nível de significância de 5%.

n_2	n_1										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,70
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,03
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,60
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,31
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,10
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,94
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,82
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,72
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,63
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,56
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,51
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,45
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,41
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,37
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,34
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,31
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,28
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,26
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,24
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,22
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,20
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,18
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,16
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,15
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,14
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,12
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,04
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,95
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,86

Fonte: ABNT, NBR 13526, 1995.

Sendo FV a fonte de variação, GL o grau de liberdade, FC o fator de correção, N o número de observações, n o número de amostras, p o número de avaliadores, SQ a soma dos quadrados, QM o quadrado médio e Fc_{am} o valor crítico calculado. As Equações 1 a 6 apresentam como os termos da análise de variância são calculados.

$$FC = (\sum total_{am})^2/N \quad (1)$$

$$N = n.p \quad (2)$$

$$SQ_{am} = \{[\sum_{am}(A)]^2 + [\sum_{am}(B)]^2 + [\sum_{am}(C)]^2/p\} - FC \quad (3)$$

$$SQ_{av} = \{[\sum_{av}(1)]^2 + [\sum_{av}(2)]^2 + [\sum_{av}(3)]^2/p\} - FC \quad (4)$$

$$SQ_{total} = \sum(cada\ valor\ atribuído\ às\ amostras\ pelos\ avaliadores)^2 - FC \quad (5)$$

$$SQ_{res} = SQ_{total} - (SQ_{am} + SQ_{av}) \quad (6)$$

Sendo n_1 o grau de liberdade da amostra e n_2 o grau de liberdade do resíduo, que correspondem aos valores de GL calculados anteriormente a partir das equações que constam no Quadro 3. Comparando o valor de Fc_{am} e F_{tab} pode-se identificar se existe diferença significativa entre as amostras, com nível de significância de 5%.

Para identificar qual amostra-teste difere da amostra-padrão, utiliza-se a diferença mínima significativa (DMS) pelo teste de *Dunnett*, conforme Equação (7).

$$DMS = d.\sqrt{\frac{2.QM_{res}}{n}} \quad (7)$$

Sabendo que d é o valor crítico para teste uni ou bilateral de *Dunnett*, segundo a Tabela 7, como não se sabe se existe diferença entre as amostras, ou seja, teste bilateral.

Onde P corresponde ao número de amostras excluindo-se a amostra padrão e n_1, para este teste, corresponde ao grau de liberdade do resíduo.

Para as amostras-teste que apresentam diferença maior ou igual ao valor da DMS em relação ao padrão, são consideradas significativamente diferentes da amostra padrão, com nível de significância de 5%.

Tabela 7: Valores críticos de d para teste de *Dunnett*, bilateral, nível de significância de 5%.

n^1	P								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	2,57	3,03	3,29	3,48	3,62	3,73	3,82	3,90	3,97
6	2,45	2,86	3,10	3,26	3,39	3,49	3,57	3,64	3,71
7	2,36	2,75	2,97	3,12	3,24	3,33	3,41	3,47	3,53
8	2,31	2,67	2,88	3,02	3,13	3,22	3,29	3,35	3,41
9	2,26	2,61	2,81	2,95	3,05	3,14	3,20	3,26	3,32
10	2,23	2,57	2,76	2,89	2,99	3,07	3,14	3,19	3,24
11	2,20	2,53	2,72	2,84	2,94	3,02	3,08	3,14	3,19
12	2,18	2,50	2,68	2,81	2,90	2,98	3,04	3,09	3,14
13	2,16	2,48	2,65	2,78	2,87	2,94	3,00	3,06	3,10
14	2,14	2,46	2,63	2,75	2,84	2,91	2,97	3,02	3,07
15	2,13	2,44	2,61	2,73	2,82	2,89	2,95	3,00	3,04
16	2,12	2,42	2,59	2,71	2,80	2,87	2,92	2,97	3,02
17	2,11	2,41	2,58	2,69	2,78	2,85	2,90	2,95	3,00
18	2,10	2,40	2,56	2,68	2,76	2,83	2,89	2,94	2,98
19	2,09	2,39	2,55	2,66	2,75	2,81	2,87	2,92	2,96
20	2,09	2,38	2,54	2,65	2,73	2,80	2,86	2,90	2,95
24	2,06	2,35	2,51	2,61	2,70	2,76	2,81	2,86	2,90
30	2,04	2,32	2,47	2,58	2,66	2,72	2,77	2,82	2,86
40	2,02	2,29	2,44	2,54	2,62	2,68	2,73	2,77	2,81
60	2,00	2,27	2,41	2,51	2,58	2,64	2,69	2,73	2,77
120	1,98	2,24	2,38	2,47	2,55	2,60	2,65	2,69	2,73

Fonte: ABNT, NBR 13526, 1995.

4.2.6.2 Método afetivo por teste de aceitação com escala hedônica

Pelo teste de aceitação, o avaliador demonstra o quanto gosta ou desgosta do produto, seja de forma generalizada ou em relação a um atributo específico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Foi utilizada a escala estruturada bipolar de sete pontos com termos entre gostei muitíssimo e desgostei muitíssimo, estabelecendo um ponto intermediário.

Foram utilizadas as mesmas amostras-teste do método anterior, evitando desperdício e reduzindo o tempo de análise. O teste foi conduzido a partir da Ficha 2.

Avaliador: _____
Data:_____/_____/_____

Você está recebendo uma amostra padrão (P) e três amostras codificadas. Compare cada uma com o controle. Avalie globalmente cada um utilizando a escala abaixo:

(1) desgostei muitíssimo
(2) desgostei moderadamente
(3) desgostei ligeiramente
(4) não gostei, nem desgostei
(5) gostei ligeiramente
(6) gostei moderadamente
(7) gostei muitíssimo

Amostras: ( )_____P_____
( )_____
( )_____
( )_____

Comentários: _____
_____
_____

Ficha 2 – Teste afetivo com escala hedônica estruturada, numérica, bipolar, sete pontos.
Fonte: Autor (2019).

Os dados obtidos são avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de média de *Tukey* com nível de significância de 5%, segundo a Tabela 8.

A Equação (8) é utilizada para o cálculo da diferença mínima significativa, DMS, a partir do teste de *Tukey*, sabendo que q corresponde ao valor crítico tabelado, n_1, para este teste, corresponde ao grau de liberdade de resíduo, e P o número de amostras, para esse teste inclui-se a amostra padrão.

$$DMS = q.\sqrt{\frac{2.QM_{res}}{n}} \quad (8)$$

Tabela 8: Valores de q para teste de Tukey, com nível de erro de 5%.

n_1	P									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15
1	17,97	26,98	32,82	37,08	40,41	43,12	45,40	47,36	49,07	55,36
2	6,08	8,33	9,80	10,88	11,74	12,44	13,03	13,54	13,99	15,65
3	4,50	5,91	6,82	7,50	8,04	8,48	8,85	9,18	9,45	10,53
4	3,93	5,04	5,76	6,29	6,71	7,05	7,35	7,60	7,83	8,66
5	3,64	4,60	5,22	5,67	6,03	6,33	6,58	6,80	6,99	7,72
6	3,46	4,34	4,90	5,30	5,63	5,90	6,12	6,32	6,49	7,14
7	3,34	4,16	4,68	5,06	5,35	5,61	5,82	6,00	6,16	6,76
8	3,26	4,04	4,53	4,89	5,17	5,40	5,60	5,77	5,92	6,48
9	3,20	3,95	4,41	4,76	5,02	5,24	5,43	5,59	5,74	6,28
10	3,15	3,88	4,33	4,65	4,91	5,12	5,30	5,46	5,60	6,11
11	3,11	3,82	4,26	4,57	4,82	5,03	5,20	5,35	5,49	5,98
12	3,08	3,77	4,20	4,51	4,75	4,95	5,12	5,27	5,39	5,88
13	3,06	3,73	4,15	4,45	4,69	4,88	5,05	5,19	5,32	5,79
14	3,03	3,70	4,11	4,41	4,64	4,83	4,99	5,13	5,25	5,71
15	3,01	3,67	4,08	4,37	4,59	4,78	4,94	5,08	5,20	5,65
16	3,00	3,65	4,05	4,33	4,56	4,74	4,90	5,03	5,15	5,59
17	2,98	3,63	4,02	4,30	4,52	4,70	4,86	4,99	5,11	5,54
18	2,97	3,61	4,00	4,28	4,49	4,67	4,82	4,96	5,07	5,50
19	2,96	3,59	3,98	4,25	4,47	4,65	4,79	4,92	5,04	5,46
20	2,95	3,58	3,96	4,23	4,45	4,62	4,77	4,90	5,01	5,43
24	2,92	3,53	3,90	4,17	4,37	4,54	4,68	4,81	4,92	5,32
30	2,89	3,49	3,85	4,10	4,30	4,46	4,60	4,72	4,82	5,21
40	2,80	3,44	3,79	4,04	4,23	4,39	4,52	4,63	4,73	5,11
60	2,83	3,40	3,74	3,98	4,16	4,31	4,44	4,55	4,65	5,00
120	2,80	3,36	3,68	3,92	4,10	4,24	4,36	4,47	4,56	4,90
∞	2,77	3,31	3,63	3,86	4,03	4,17	4,29	4,39	4,47	4,80

Fonte: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

5 **RESULTADOS**

5.1 TORREFAÇÃO DO MALTE *PILSEN*

Realizou-se 10 bateladas de torrefação, cada uma com massa inicial de malte úmido de 500 g, tendo uma massa final de malte torrado de aproximadamente 250g. A Tabela 9 apresenta as massas iniciais e finais de cada etapa de torrefação.

Tabela 9: Massas iniciais e finais de cada torrefação

Torrefação	**Massa de malte úmido (g)**	**Massa de malte torrado (g)**
1ª	500	252
2ª	500	250
3ª	500	254
4ª	500	256
5ª	500	248
6ª	500	254
7ª	500	252
8ª	500	248
9ª	500	249
10ª	500	253

Fonte: Autor (2019).

Verifica-se que a massa de água evaporada é próxima do produto obtido da torrefação. Na Figura 10, tem-se uma imagem de uma amostra do malte base, à esquerda, e do malte torrado, à direita.

5.2 PRODUÇÃO DAS CERVEJAS

Os lotes produzidos com malte torrado, à esquerda da Figura 11, apresentaram cor acobreada intensa, aromas adocicados como de caramelo e aromas de pão, biscoito e sabor também adocicados que remete ao caramelo e açúcar torrado. A cerveja

produzida somente com malte *Pilsen*, à direita da Figura 11, apresentou cor dourada, com aroma e sabor neutros, característicos das cervejas que não utilizam maltes especiais.



Figura 10: Amostra do malte base, à esquerda, e do malte torrado, à direita.
Fonte: Autor (2019).



Figura 11: À esquerda, cerveja produzida com malte torrado, à direita, cerveja produzida apenas com malte Pilsen.
Fonte: Autor (2019).

Na produção das cervejas com malte torrado, utilizou-se 500 g deste em cada um dos três lotes, sendo necessário então produto de duas torrefações para cada lote de cerveja. Sendo assim, o malte da 5ª e 6ª torra foi utilizado na Cerveja 1, da 7ª e 8ª na Cerveja 2 e 9ª e 10ª na Cerveja 3.

5.3 ANÁLISE FÍSICO QUÍMICA

As cervejas escuras e a clara tiveram as densidades iniciais e finais e teor alcóolico médio apresentados na Tabela 10:

Tabela 10: Densidades e teor alcóolico médio das cervejas.

Cerveja	Densidade inicial ($g.cm^{-3}$)	Densidade final ($g.cm^{-3}$)	Teor alcóolico (%v/v)
Escura	1,043	1,012	4,14
Clara	1,042	1,006	4,29

Fonte: Autor (2019).

É possível observar que a cerveja escura teve uma densidade final mais alta que a da cerveja clara. Isso se deve ao fato de o malte torrado fornecer açúcares não-fermentescíveis ao mosto, o que resultou em um teor alcóolico médio menor e maior concentração de sólidos.

5.4 ANÁLISE SENSORIAL

De acordo com o que foi apresentado na Seção 4.2.5 em Análise Sensorial, foram realizados os testes de comparação múltipla e aceitação, em quatro amostras de cervejas artesanais, sendo três produzidas com malte torrado e uma apenas com malte *Pilsen*.

O Quadro 4 apresenta o perfil dos avaliadores, a partir do questionário que consta no Quadro 2, respondido durante a análise sensorial.

Conforme apresentado, o grupo de avaliadores é constituído em sua maioria por membros do sexo feminino (73,33%), na faixa etária entre 26 e 35 (40%), curso superior completo (73,33%), frequência de consumo, tanto de bebidas alcóolicas em geral quanto de cerveja, maior do que uma vez na semana (40%), a maioria não teve contato ou conhecimento do processo produtivo da cerveja (66,67%), nenhum dos avaliadores tem alergia a alimentos ou bebidas e entre as comorbidades apenas a hipertensão foi assinalada (6,67%).

Perfil dos avaliadores		Avaliadores (%)
Sexo	Feminino	73,33
	Masculino	26,67
Faixa etária	< 18 anos	0
	18 a 25 anos	0
	26 a 35 anos	40
	36 a 45 anos	13,33
	46 a 50 anos	13,33
	> 50 anos	33,33
Escolaridade	1° grau incompleto	0
	1° grau completo	0
	2° grau incompleto	0
	2° grau completo	26,67
	superior incompleto	0
	superior completo	73,33
Frequência de consumo de bebidas alcóolicas	< 1 vez/ mês	26,67
	1 a 3 vezes/ mês	13,33
	1 vez/ semana	20
	> 1 vez/ semana	40
Frequência de consumo de cerveja	< 1 vez/ mês	26,67
	1 a 3 vezes/ mês	6,67
	1 vez/ semana	26,67
	> 1 vez/ semana	40
Contato com a produção de cerveja	Sim	33,33
	Não	66,67

Alérgico a alimentos ou bebidas	Sim	0
	Não	100
Comorbidades	Diabetes	0
	Hipertensão	6,67
	Hipoglicemia	0
	Complicações bucais	0

Quadro 4: Perfil dos avaliadores.

Fonte: Autor (2019).

5.4.1 **Método discriminativo**

As respostas obtidas no teste de comparação múltipla constam no Apêndice B e foram avaliadas através da análise de variância (ANOVA), conforme mostrado anteriormente pela Quadro 3. Os resultados dos cálculos realizados a partir das Equações 1 a 6, são apresentados na Quadro 5.

FV	**GL**	**SQ**	**QM**	**Fc**
Amostra	2	30,05	15,03	20,31
Avaliador	14	6,31	0,45	0,61
Resíduo	28	20,62	0,74	-
Total	44	56,98	-	-

Quadro 5: Análise de variância aplicada aos resultados obtidos no teste de comparação múltipla.

Fonte: Autor (2019).

Dispondo dos graus de liberdade da amostra e do resíduo, pode-se identificar o valor crítico F_{tab}, no Apêndice C, com nível de significância de 5%, portanto, F_{tab} vale 3,34. Como Fc_{am} (20,31) é maior que F_{tab} (3,34), existe diferença significativa entre as amostras.

Para identificar qual amostra- teste difere da amostra- padrão faz-se o cálculo da diferença mínima significativa (DMS), conforme Equação 7, utilizando o valor crítico bilateral de *Dunnett* (d), a partir da Tabela 6. Como não consta o valor de d para o

grau de liberdade do resíduo de 28, interpola-se os valores disponíveis, conforme demarcados na Tabela 6 no Apêndice D, e obtém-se o valor de 2,48 para d. Por fim calculou-se DMS obtendo 0,79.

A partir dos valores das médias das amostras e de DMS, pode-se comparar as amostras e estabelecer se existe diferença entre as mesmas, para isso subtraem-se as médias de cada amostra em módulo, verifica-se se essa diferença é menor do que o valor da DMS e se o valor das médias é menor do que o valor crítico d tabelado.

$$|Amostra_1 - Amostra_2| = |2{,}00 - 2{,}00| = 0$$

$$|Amostra_1 - Amostra_3| = |2{,}00 - 3{,}73| = 1{,}73$$

$$|Amostra_2 - Amostra_3| = |2{,}00 - 3{,}73| = 1{,}73$$

$$|Amostra_1 - Amostra_2| = |2{,}00 - 2{,}00| = 0$$

Analisando as médias das notas das amostras com o valor crítico d no Quadro 6, podemos identificar quais amostras diferem das outras.

Amostras	**Média**
Amostra 3	3,73[a]
Amostra 1	2,00[b]
Amostra 2	2,00[b]

Quadro 6: Média das notas das amostras.
Fonte: Autor (2019).

Portanto, apenas a amostra 3 difere da amostra-padrão em nível de significância de 5%, enquanto as duas amostras restantes não apresentaram diferença significativa em relação a amostra-padrão.

5.4.2 **Método afetivo**

O Quadro 7 apresenta os valores obtidos com avaliadores a partir do teste de aceitação cujas respostas constam no Apêndice E, utilizando a Ficha 2 apresentada anteriormente. Para este teste foi considerado também a amostra-padrão na contagem de amostras.

FV	GL	SQ	QM	Fc
Amostra	3	2,98	0,99	0,74
Avaliador	14	30,23	2,16	1,62
Resíduo	42	55,77	1,33	-
Total	59	88,98	-	-

Quadro 7: Análise de variância aplicada aos resultados obtidos no teste de aceitação.
Fonte: Autor (2019).

A partir dos graus de liberdade obtidos, pode-se definir o valor crítico F_{tab}, conforme apresentado no Apêndice F. Como não possui um valor exato para o grau de liberdade do resíduo, interpola-se os valores de 40 e 60, obtendo um F_{tab} de 2,83. Observando o Quadro 7, nota-se que o valor de Fc_{am} (0,74) é menor do que F_{tab} (2,83), portanto não existe diferença significativa ao nível de 5% na aceitação das amostras de cerveja.

Utilizando o teste de comparação de médias *Tukey,* podemos confirmar que há aceitação entre as amostras. Calcula-se a diferença média significativa (DMS) a partir da Equação 8, conforme apresentado no Apêndice G encontra-se o valor crítico q, relacionando o número de amostras e grau de liberdade de resíduos. Novamente é necessário interpolar para definir o valor crítico para o grau de liberdade de resíduos de 42, obtendo 3,785. Dispondo desse valor, pode-se finalmente calcular DMS, obtendo 1,59.

A partir dos valores das médias das amostras e de DMS, pode-se comparar novamente as amostras e estabelecer se as mesmas foram aceitas, para isso subtraem-se as médias de cada amostra em módulo, verifica-se se essa diferença é

menor do que o valor da DMS e se o valor das médias é menor do que o valor crítico q tabelado.

$$|Amostra_P - Amostra_1| = |5{,}47 - 4{,}93| = 0{,}54$$

$$|Amostra_P - Amostra_2| = |5{,}47 - 5{,}00| = 0{,}47$$

$$|Amostra_P - Amostra_3| = |5{,}47 - 5{,}33| = 0{,}14$$

$$|Amostra_1 - Amostra_2| = |4{,}93 - 5{,}00| = 0{,}07$$

$$|Amostra_1 - Amostra_3| = |4{,}93 - 5{,}33| = 0{,}40$$

$$|Amostra_2 - Amostra_3| = |5{,}00 - 5{,}33| = 0{,}33$$

Como nenhuma das diferenças dos módulos apresentou resultado maior que o valor de DMS, nota-se que não há diferença significativa quanto ao grau de aceitação das amostras, como pode ser observado no Quadro 8.

Amostras	**Médias**
Amostra- padrão	5,47[a]
Amostra 3	5,33[a]
Amostra 2	5,00[a]
Amostra 1	4,93[a]

Quadro 8: Médias das notas das amostras.
Fonte: Autor (2019).

Apesar das amostras não apresentarem diferença significativa no grau de aceitação, pode-se observar que a amostra-padrão foi a mais aceita e Amostra 1 a menos aceita, pois quanto maior a média, maior é o grau de aceitação.

A partir do Gráfico 3 da distribuição da frequência de resposta para cada amostra avaliada, é possível verificar que mais de 50% das amostras obtiveram nota maior que 5, sendo que a escala hedônica é de sete pontos, portanto as amostras podem ser consideradas aceitas.

Sabendo que 86,67% das amostras-padrão, 60% da Amostra 1, 66,67% da Amostra 2 e 66,67% da Amostra 3 tiveram notas de aceitação maiores ou iguais a 5, portanto todas as amostras foram bem aceitas.

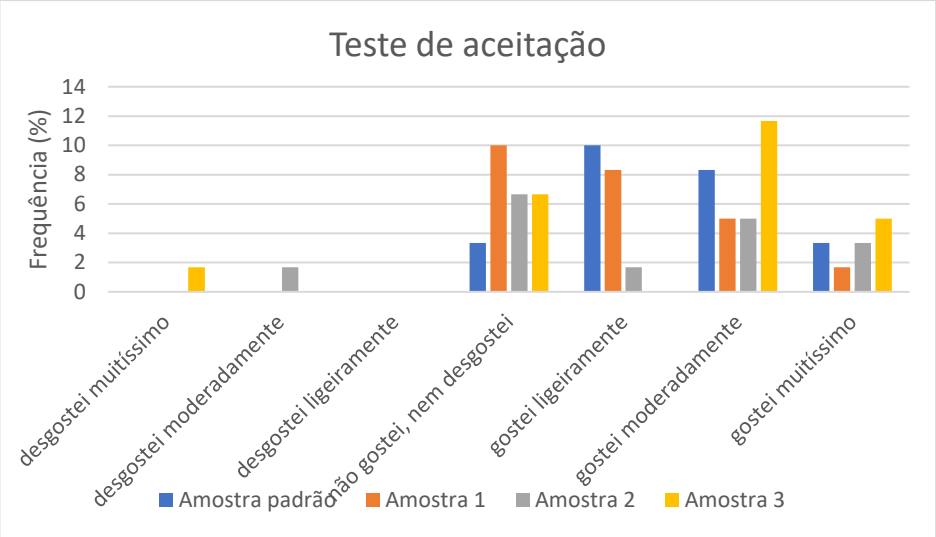


Gráfico 3: Distribuição da frequência de resposta para cada amostra
Fonte: Autor (2019).

6 **CONCLUSÃO**

Mostrou-se então que é possível produzir malte torrado a partir do malte *Pilsen* comercial, e não somente a partir do malte verde como nas maltarias. As cervejas produzidas com este malte tiveram as características de cor, sabor e aroma dentro da expectativa para um malte que sofre as reações de *Maillard* e caramelização na indústria, além do teor alcóolico levemente menor.

Através da análise sensorial comparativa, observa-se que foi possível obter uma padronização do processo de torra, pois os avaliadores não apontaram diferenças significativas entre as três amostras da cerveja escura, enquanto reportaram grande diferença com a cerveja clara. Com o teste de afetividade, percebe-se que o produto tem boa aceitação, correspondendo às expectativas de pessoas que têm o hábito de consumir cerveja. As amostras 2 e 3 foram as de melhor aceitabilidade no Teste de Aceitação, tendo 66,7% das notas acima de 5.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.). **Tecnologia de bebidas:** matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado. São Paulo: Edgard Blücher, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13526:** Teste de comparação múltipla em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14141:** Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998.

BRASIL. Decreto Nº 6.871, de 4 de Junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da União, Brasília, 4 de junho de 2009.

CHESCA, Ana; PAIVA, Flávio; FINZER, José. **Influence of Agitation on the Propagation of Saccharomyces cerevisiae in the Process of Manufacturing Artisan Beers.** Journal of Advances In Biology & Biotechnology, [s.l.], v. 16, n. 2, p.1-6, 15 dez. 2017. Sciencedomain International. http://dx.doi.org/10.9734/jabb/2017/37980.

COGHE, Stefan; GHEERAERT, Bert; MICHIELS, Ann; DELVAUX, Freddy R. **Development of Maillard Reaction Related Characteristics During Malt Roasting**. Journal of the Institute of Brewing, Bélgica, v. 112, n. 2, p. 148-156, 2006.

CARMOMAQ. **Manual técnico** – Torrador para café. MOD-TP1. 2018.

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk L.; FENNEMA, Owen R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

D'AVILA, Roseane et al. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.60-68, 31 dez. 2012. UNISINOS - Universidade do Vale do Rio Dos Sinos. http://dx.doi.org/10.4013/ete.2012.82.03.

ELIASSON, A.C. Starch in food – Structure, function and applications. New York: Boca Raton, CRC, 2004.

GAVA, Altanir; SILVA, Carlos Alberto; FRIAS, Jenifer. **Tecnologia de alimentos:** Princípios e Aplicações. 2. ed. São Paulo: Nobel, 2008.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KNAPP, Mateus Antonio; BAINY, Eduarda Molardi; ROSSONI, Mila A. **Processamento e análise sensorial de cerveja artesanal do estilo "witbier" com adição de polpa de maracujá.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS,25., 2016, Gramado. Anais. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/1265.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2019.

KULP, Karel; PONTE, Joseph. **Handbook of cereal Science and technology.** 2. ed. USA: CRC Press, 2000.

MALLET, John. **Malt:** A practical guide from field to brewhouse. 1. ed. USA: Brewers Publications, 2014.

MARCUSSO, Eduardo. F.; MULLER, Carlos. V. **A Cerveja no Brasil:** O Ministério da Agriculta informando e esclarecendo. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pasta-publicacoes-DIPOV/a-cerveja-no-brasil-28-08.pdf/view>. Acesso em 24 ago. 2018.

MARCUSSO, Eduardo. F.; MULLER, Carlos. V. **Anuário da cerveja no Brasil**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pasta-publicacoes-DIPOV/AnuariodacervejanoBrasil09.01.pdf>. Acesso em 24 ago. 2018.

PALMER, John J.. **How to Brew:** Everything You Need to Know to Brew Beer Right the First. 3. ed. Eua: Brewers Publications, 2006.

PALMER, John; KAMINSKI, Colin. **Water:** A comprehensive guide for brewers. 1. ed. USA: Brewers Publications, 2013.

SILVA, Daniel Pereira da. **Produção e avaliação sensorial de cerveja obtida a partir de mostos com elevadas concentrações de açúcares.** 2005. 177 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia Industrial, Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2005. Disponível em: <http://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/antigas/2005/BIT05002.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2019.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni. **Bebidas Alcoólicas:** Ciência e Tecnologia (Volume 1). 1. ed. São Paulo: Blucher, 2010.

APÊNDICE A – Estudo sobre propagação de leveduras para produção de cerveja artesanal.



Journal of Advances in Biology & Biotechnology

16(2): 1-6, 2017; Article no.JABB.37980
ISSN: 2394-1081

Influence of Agitation on the Propagation of *Saccharomyces cerevisiae* in the Process of Manufacturing Artisan Beers

Ana Cláudia Chesca[1*], Flávio Araújo Pousa Paiva[1] and José Roberto D. Finzer[1]

[1]Universidade de Uberaba, Av. Nenê Sabino, 1801.CEP 38.055-500, Uberaba, MG, Brazil.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration with all authors. Author ACC designed the study together with the authors FAPP and JRDF. The author FAPP carried out the laboratory, wrote the protocol and wrote the first draft of the manuscript. Author ACC managed the analysis of the study. Authors ACC, FAPP and JRDF assisted in the preparation of the final manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.9734/JABB/2017/37980
Editor(s):
(1) Maria Serrano, Department of Applied Biology, EPSO, University Miguel Hernandez, Orihuela, Alicante, Spain.
(2) Fernando José Cebola Lidon, Universidade Nova de Lisboa, Campus da Caparica, Portugal.
Reviewers:
(1) Bogumil E. Brycki, Adam Mickiewicz University, Poland.
(2) Samuel Kwatia, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Ghana.
(3) Selma Gomes Ferreira Leite, Federal University of Rio de Janeiro, Brasil.
Complete Peer review History: http://www.sciencedomain.org/review-history/22304

Original Research Article

Received 4th November 2017
Accepted 11th December 2017
Published 15th December 2017

ABSTRACT

Aims: In view of the growth of the production of artisan beers and the influence of aeration on microbial growth, this work aimed to show the importance of approaching the transfer of oxygen in aerobic fermentation processes.
Study Design: In this study the agitation in the propagation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in the artisan brewing process was carried out, as it is of fundamental importance to consider the function of oxygen in the control of the metabolism and growth of the yeast.
Place and Duration of Study: Laboratory of Food Microbiology, University of Uberaba, between June 2016 and July 2016.
Methodology: The research was carried out at the Laboratory of Microbiology of Food and for the propagation, a dry malt extract (DME) was used, which is basically obtained by the hydrolysis of the raw and malted barley, and then subjected to concentration, vacuum dehydration and milling. For

**Corresponding author: E-mail: ana.chesca@uniube.br;*

the fermentation process, the lyophilized yeast of *Saccharomyces cerevisiae*, Fermentis® brand, safarine strain US-05®, with the initial concentration of 19 x 109 cells per gram, was used in 11.5 g sachets, as indicated by provider. The strain was obtained from a specialist trade and is a neutral American yeast with no ester and high tolerance to alcohol. The wort, with an initial density of 1.035 g.cm-3, was prepared by dissolving 45 g of DME in 450 mL of boiling water and after 15 minutes of boiling it was cooled to 25℃. This procedure was repea ted twice by obtaining propagation means 1 and 2. The yeast 11.5 g volume was divided into two portions and each portion was hydrated in 50 mL of distilled water at room temperature and inoculated into the propagation media 1 and 2. Sample 1 was shaken on a Nova Ethics® Kline shaker with rotation set at 120 RPMs for 10 hours. Sample 2 was rested and homogenized for collection every 1 hour for 10 hours. The determination of the cellular concentration (cel/mL) was performed in Neubauer chamber (1/400 mm2 x 1/10 mm) and for the determination of viable and non-viable cells, the International Coloring Method was used, using methylene blue as described in the methodology proposed by ASBC (1996). Viability is given by the ratio of viable cells to total cells.

Results: The system that remained with constant agitation has a growth approximately 15% greater than the system without agitation.

Conclusion: From the results obtained, it can be concluded that the propagation of yeast cells plays a fundamental role in the production of beers, whether homemade or industrial, because it increases the amount of viable cells, making the fermentation more intense. Agitation accelerates the consumption of substrate and, consequently, cell multiplication, besides increasing cell viability, which is fundamental for fermentation.

Keywords: Kinetic study; fermentation; yeast; microbial multiplication; oxygenation.

1. INTRODUCTION

Historical data on alcoholic beverages are inaccurate, and it is difficult to know when the first fermented alcoholic beverages were obtained, although there are citations about their use before the Christian era. The most accurate descriptions come from Arab authors of the tenth century, assuming that they have created the terms alcohol and alembic [1]. The first known beer was made by the Sumerians, a people who lived in Mesopotamia, the Middle East [2]. Beyond this civilization, the Assyrians and Babylonians were also excellent brewers [2].

Industrial beers have established themselves worldwide and today, in parallel with the industry, the movement of artisanal breweries gains space in the Brazilian brewing sector [3]. The fans of this style search around history, culture and quality of the drink and is also seen as a great business opportunity that attracts many interested in investing in production [3]. What distinguishes artisanal beer from industrial, besides the size of production, is the best raw material quality and the addition of regional products, which generates more robust and unique flavors [3].

The growing demand for specialty beers has been driving the industry to seek innovations for its process. In the context of fermentation, yeasts are a key point, both regarding the tolerance to the stresses of the process, ensuring its efficiency and the production of the aromatic compounds of the beverage [4].

In the brewing process, fermentation is important and *Saccharomyces cerevisiae* is a yeast that has shown a prominence in the various fermentative processes due to its ability to convert sugars into ethanol, organic acids and carbonic gas [4]. The performance of brewer's yeast in the fermentation is influenced and controlled by several factors: yeast strain employed, yeast cell stress tolerance, cell viability and vitality, cell concentration of the inoculum, concentration and nature of nitrogen the variety and concentration of sugars in the must, the availability of metallic ions, temperature, pH, dissolved oxygen and must density [4].

The aeration in fermentative processes is fundamental and essential to favor the growth conditions of the microorganism, and the aim of the agitation and aeration conditions are the dispersion of the air bubbles, consequently the oxygen supply to the microorganisms. Upon shaking the microbial cells remain in suspension with increasing heat transfer and mass in the medium [4].

In view of the growth of the production of artisan beers and the influence of aeration on microbial growth, this work aimed to show the importance

of approaching the transfer of oxygen in aerobic fermentation processes.

2. MATERIALS AND METHODS

The research was carried out at the Laboratory of Microbiology of Food of and for the propagation, a dry malt extract (DME) was used, which is basically obtained by the hydrolysis of the raw and malted barley, and then subjected to concentration, vacuum dehydration and milling. For the fermentation process, the lyophilized yeast *Saccharomyces cerevisiae*, brand Fermentis®, safarine strain US-05®, with the initial concentration of 19 x 10^9 cells per gram, was used in sachets of 11.5 g, as indicated by provider. The strain was obtained from a specialist trade and is a neutral American yeast with no ester and high tolerance to alcohol.

The wort, with an initial density of 1.035 g.cm-3, was prepared by dissolving 45 g of DME in 450 mL of boiling water and after 15 minutes of boiling it was cooled to 25℃.This procedure was repeated twice by obtaining propagation means 1 and 2.

The yeast 11.5 g volume was divided into two portions and each portion was hydrated in 50 mL of distilled water at room temperature and inoculated into the propagation media 1 and 2.

Sample 1 was shaken on a Nova Ethics® Kline shaker with rotation set at 120 RPMs for 10 hours. Sample 2 was rested and homogenized for collection every 1 hour for 10 hours.

The determination of the cellular concentration (cel/mL) was performed in Neubauer chamber (1/400 mm2 x 1/10 mm) and for the determination of viable and non-viable cells, the International Coloring Method was used, using methylene blue according to ASBC [5]. Cell viability was calculated from the equation below. Viability is given by the ratio of viable cells to total cells [6].

$$\text{Viabilidade celular (\%)} = \left(\frac{\textit{número de células viáveis}}{\textit{número de células totais}}\right) x\ 100$$

3. RESULTS AND DISCUSSION

Fig. 1. shows cell growth over 10 hours of propagation of the cellular systems with and without agitation.

The two populations depart from approximately 200 million cells per milliliters, and it can be seen that the system which remained with constant agitation has a growth approximately 15% greater than the system without agitation. This difference would have been greater if the non-agitated system was not homogenized every 1h for collection, thus the decanted cells were suspended, which increased the contact with the substrates and accelerated the growth. The agitation and consequent aeration of the medium favors the dispersion of the air bubbles and the supply of oxygen to the microbial cells and also their suspension by increasing the transfer of heat and mass in the medium.

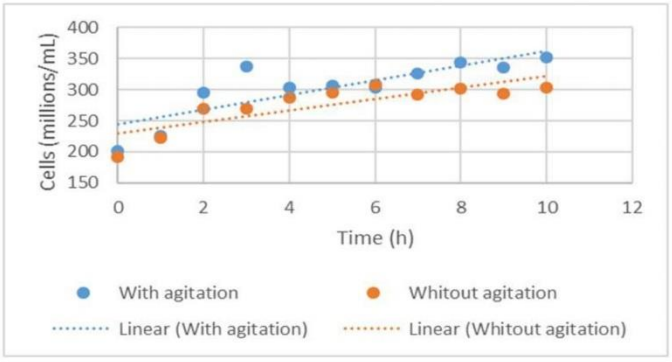


Fig. 1. Cell growth of systems with and without agitation

For facultative microorganisms, such as *Saccharomyces cerevisiae*, oxygen plays a crucial role in all metabolism because it participates in the generation of energy through the chain of respiration within the mitochondria, which is fundamental to obtain a specific specific growth rate [7].

The aeration of the must is one of the factors that affect the fermentation stage [8]. The amount of dissolved oxygen as well as the decrease in substrate concentration directs the assimilation sequence of the components of the fermentative medium as well as the formation of metabolic by-products in a coordinated manner. The flavor of beer results from the mixture of compounds derived from aerobic and anaerobic metabolism from the different stages of fermentation. The dissolved oxygen affects the production of fermentation by-products such as diketones, higher alcohols, esters and acetaldehyde [9]. In relation to the consumption of substrates, the results obtained are in Fig. 2, where the decrease of the density of the two systems can be observed.The musts that are obtained only from the malt contain as carbon source the following sugars: sucrose, glucose, fructose, maltose, maltotriose and dextrins [10]. The sucrose is hydrolyzed by an invertase enzyme which is secreted into the yeast periplasm, thereby increasing the concentration of glucose and fructose, sugars which are first assimilated [11] and when 50% of the glucose was consumed by the yeast, the maltose and maltotriose assimilation begin respectively [10].

The maltose that is the carbohydrate of greater quantity in the must, begins to be metabolized and when this reaches an undetectable level, maltotriose begins to be assimilated [11]. That maltose and maltotriose are ultimately used because glucose is the main source of carbon and energy for yeast [12]. The absorption of maltose involves two systems: energy-dependent maltose (ATP converted to ADP) transporters, which carry intact maltose through the cell membrane and maltase (α-glucosidase), which hydrolyzes maltose internally in order to obtain two glucose molecules. Maltotriose, on the other hand, has an independent carrier which depends on energy for intact transport, but shares α-glucosidase, which hydrolyses sugar into three glucose units [13].

From the results obtained it is possible that the lag time period ends first in the sample with agitation and it is noticed that from the second hour there is consumption of substrate. In sample 2, without stirring, this occurs only in the third hour. This higher consumption rate in sample 1 remains throughout the entire process, as the cells do not decant and remain in contact with the substrate for longer.

Through the graphical representation of cell viability as a function of the fermentation time presented in Fig. 3, it was observed that in the first hour, after inoculating the cells in the must, there is a drop in viability due to the osmotic pressure gradient. After 10 hours, viability is approximately 10% greater than the initial one in the two samples.

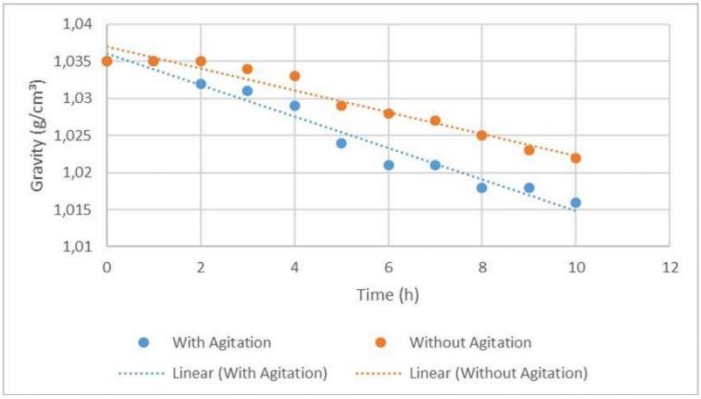


Fig. 2. Consumption of substrates over time

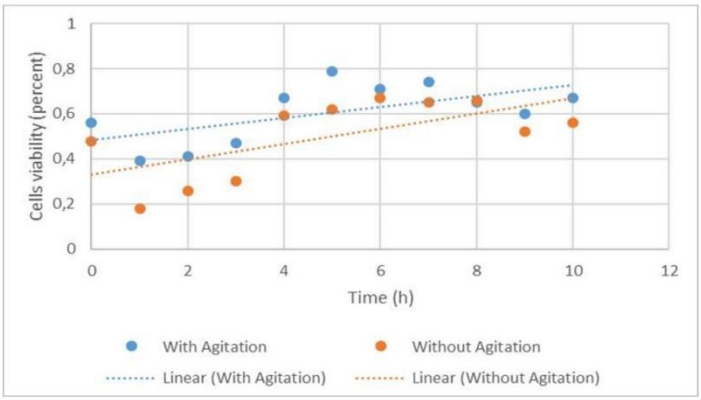


Fig. 3. Cell viability over time

The logarithmic or exponential phase, in which the cell growth is quite expressive, and consequently, there is higher consumption of the substrate and formation of the product (ethanol), was reached between 4h and 6h, for both experiments. The viability values were elevated throughout the fermentation, but there is a decrease between the eighth and tenth hours, which can be explained by the toxicity of ethanol, which is one of the main factors that cause instability in the fermentation process and also the reduction of available substrate [14].

It is important to emphasize that the fermentation stage depends not only on the aeration of the must, but also on several other characteristics of the medium, such as temperature, chemical composition and extract concentration in the must, quantity and mode of inoculation of the yeast in the must, geometry and dimensions two fermentation tanks. The aeration of the wort is not a determinant factor for the stability of the flavor, but an inefficient aeration can have a negative impact on the process [15].

4. CONCLUSION

From the results obtained, it can be concluded that the propagation of yeast cells plays a fundamental role in the production of beers, whether homemade or industrial, because it increases the amount of viable cells, making the fermentation more intense. Agitation accelerates the consumption of substrate and, consequently, cell multiplication, besides increasing cell viability, which is fundamental for fermentation. The fact that viability has increased less than that described in the literature shows that only the agitation is not enough for a more extensive multiplication, which can be improved with oxygenation of the used wort.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Malta HL. Studies of yeast propagation parameters (*Saccharomyces cerevisiae*) to produce alembic cachaça. 2006. 70 f. Dissertation (Master in Food Science) - Faculty of Pharmacy, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte; 2006.
2. Carvalho GBM. Obtaining beer using banana as an adjunct and flavoring agent. 2009. 163 f. Thesis (Doctorate in Biotechnology Industrial) - School of Engineering of Lorena, University of São Paulo, Lorena. Brazil; 2009.
3. Ferreira RH, et al. Innovation in the production of specialty beers in the Belo Horizonte region. Perspectives in Information Science. Brazil. 2011;16:171-191.
4. Bokulich, NA, Bamforth, CW. The microbiology of malting and brewing. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2013;77(2):157-172.

5. ASBC. American Society of Brewing Chemists. Methods of analysis of American society of brewing chemists. 8th ed. Minnesota: Technical Committee and the Editorial Committe of the ASBC; 1996.
6. White C, Zainasheff J. Yeast: The practical guide to beer fermentation. Brewers Publications. 2010;297.
7. Silva DP, Pessoa Jr A, Roberto IC, Vitolo M. Effect of agitation and aeration on production of hexokinase by *Saccharomyces cerevisiae*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2001; 91(3):605-613.
8. Briggs DE. Brewing science and practice. 1. ed. Woodhead Publishing; 2004.
9. Bránylk T, et al. A review of flavour formation in continuous beer fermentations. Journal of the Institute of Brewing. 2008;114:3–13.
10. Almeida, Silva. Cerveja. In: Venturini Filho, GW. Beverage technology: Raw material, processing, GMP/HACCP, legislation and market. São Paulo: Edgard Blucher; 2005.
11. Briggs DE, Boulton CA, Brookes PA, Stevens R. Brewing – Science and Practice, Cambridge: CRC Press; 2004.
12. Vidgren V. Maltose and maltotriose transport into ale and lager brewers yeast strains. 2010. 158f. Dissertation (Doctorate), Faculty of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki; 2010.
13. Walker GM. Yeast physiology and biotechnology. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.; 1998.
14. Carvalho DS, Zambiazi RC. Evaluation of the fermentation process of pilsen beer by the use of different concentrations of *Saccharomyces cerevisiae*. Food and Nutrition. Brazil. 2011;22:(3):351-357.
15. Depraetere SA, et al. The influence of wort aeration and yeast preoxygenation on beer staling processes. Food Chemistry. 2008;107:242–249.

© 2017 Chesca et al.; This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Peer-review history:
The peer review history for this paper can be accessed here:
http://sciencedomain.org/review-history/22304

APÊNDICE B – Notas para o teste de comparação múltipla.

	Amostras							
Avaliador	**Amostra 1**	**(Amostra 1)^2**	**Amostra 2**	**(Amostra 2)^2**	**Amostra 3**	**(Amostra 3)^2**	**Σ_{av}**	**$(\Sigma_{av})^2$**
1	2,00	4,00	4,00	16,00	4,00	16,00	10,00	100,00
2	2,00	4,00	2,00	4,00	5,00	25,00	9,00	81,00
3	1,00	1,00	2,00	4,00	4,00	16,00	7,00	49,00
4	2,00	4,00	2,00	4,00	4,00	16,00	8,00	64,00
5	2,00	4,00	1,00	1,00	4,00	16,00	7,00	49,00
6	2,00	4,00	1,00	1,00	5,00	25,00	8,00	64,00
7	2,00	4,00	2,00	4,00	4,00	16,00	8,00	64,00
8	2,00	4,00	2,00	4,00	3,00	9,00	7,00	49,00
9	3,00	9,00	3,00	9,00	3,00	9,00	9,00	81,00
10	2,00	4,00	2,00	4,00	4,00	16,00	8,00	64,00
11	1,00	1,00	1,00	1,00	4,00	16,00	6,00	36,00
12	3,00	9,00	1,00	1,00	2,00	4,00	6,00	36,00
13	3,00	9,00	2,00	4,00	2,00	4,00	7,00	49,00
14	1,00	1,00	2,00	4,00	4,00	16,00	7,00	49,00
15	2,00	4,00	3,00	9,00	4,00	16,00	9,00	81,00
Σ_{am}	30,00	66,00	30,00	70,00	56,00	220,00	116,00	916,00
$(\Sigma_{am})^2$	900,00		900,00		3136,00		13456,00	
Média$_{am}$	2,00		2,00		3,73			

Fonte: Autor (2019).

APÊNDICE C – Valor de F_{tab} para a análise de variância.

n_2	n_1										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,70
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,03
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,60
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,31
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,10
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,94
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,82
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,72
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,63
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,56
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,51
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,45
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,41
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,37
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,34
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,31
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,28
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,26
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,24
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,22
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,20
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,18
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,16
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,15
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,14
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,12
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,04
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,95
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,86

Fonte: Adaptado de ABNT, NBR 13526, 1995.

APÊNDICE D – Valor crítico d para Teste Dunnet.

n^1	P								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	2,57	3,03	3,29	3,48	3,62	3,73	3,82	3,90	3,97
6	2,45	2,86	3,10	3,26	3,39	3,49	3,57	3,64	3,71
7	2,36	2,75	2,97	3,12	3,24	3,33	3,41	3,47	3,53
8	2,31	2,67	2,88	3,02	3,13	3,22	3,29	3,35	3,41
9	2,26	2,61	2,81	2,95	3,05	3,14	3,20	3,26	3,32
10	2,23	2,57	2,76	2,89	2,99	3,07	3,14	3,19	3,24
11	2,20	2,53	2,72	2,84	2,94	3,02	3,08	3,14	3,19
12	2,18	2,50	2,68	2,81	2,90	2,98	3,04	3,09	3,14
13	2,16	2,48	2,65	2,78	2,87	2,94	3,00	3,06	3,10
14	2,14	2,46	2,63	2,75	2,84	2,91	2,97	3,02	3,07
15	2,13	2,44	2,61	2,73	2,82	2,89	2,95	3,00	3,04
16	2,12	2,42	2,59	2,71	2,80	2,87	2,92	2,97	3,02
17	2,11	2,41	2,58	2,69	2,78	2,85	2,90	2,95	3,00
18	2,10	2,40	2,56	2,68	2,76	2,83	2,89	2,94	2,98
19	2,09	2,39	2,55	2,66	2,75	2,81	2,87	2,92	2,96
20	2,09	2,38	2,54	2,65	2,73	2,80	2,86	2,90	2,95
24	2,06	2,35	2,51	2,61	2,70	2,76	2,81	2,86	2,90
30	2,04	2,32	2,47	2,58	2,66	2,72	2,77	2,82	2,86
40	2,02	2,29	2,44	2,54	2,62	2,68	2,73	2,77	2,81
60	2,00	2,27	2,41	2,51	2,58	2,64	2,69	2,73	2,77
120	1,98	2,24	2,38	2,47	2,55	2,60	2,65	2,69	2,73

Fonte: Adaptado de ABNT, NBR 13526, 1995.

APÊNDICE E – Notas obtidas pelo teste de aceitação.

	Amostras									
			Amostra		Amostra		Amostra			
Avaliador	Amostra Padrão	(Amostra Padrão)^2	1	(Amostra 1)^2	2	(Amostra 2)^2	3	(Amostra 3)^2	Σ_{av}	$(\Sigma_{av})^2$
1	6,00	36,00	6,00	36,00	2,00	4,00	1,00	1,00	15,00	225,00
2	5,00	25,00	5,00	25,00	5,00	25,00	6,00	36,00	21,00	441,00
3	5,00	25,00	5,00	25,00	5,00	25,00	6,00	36,00	21,00	441,00
4	5,00	25,00	4,00	16,00	5,00	25,00	6,00	36,00	20,00	400,00
5	7,00	49,00	5,00	25,00	7,00	49,00	6,00	36,00	25,00	625,00
6	5,00	25,00	4,00	16,00	4,00	16,00	7,00	49,00	20,00	400,00
7	5,00	25,00	5,00	25,00	5,00	25,00	6,00	36,00	21,00	441,00
8	5,00	25,00	4,00	16,00	4,00	16,00	6,00	36,00	19,00	361,00
9	6,00	36,00	4,00	16,00	4,00	16,00	4,00	16,00	18,00	324,00
10	7,00	49,00	7,00	49,00	7,00	49,00	4,00	16,00	25,00	625,00
11	4,00	16,00	4,00	16,00	4,00	16,00	4,00	16,00	16,00	256,00
12	6,00	36,00	4,00	16,00	6,00	36,00	7,00	49,00	23,00	529,00
13	6,00	36,00	6,00	36,00	6,00	36,00	6,00	36,00	24,00	576,00
14	6,00	36,00	6,00	36,00	6,00	36,00	4,00	16,00	22,00	484,00
15	4,00	16,00	5,00	25,00	5,00	25,00	7,00	49,00	21,00	441,00
Σ_{am}	82,00	460,00	74,00	378,00	75,00	399,00	80,00	464,00	311,00	6569,00
$(\Sigma_{am})^2$	6724,00		5476,00		5625,00		6400,00		96721,00	
Média$_{am}$	5,47		4,93		5,00		5,33			

Fonte: Autor (2019).

APÊNDICE F – Valores críticos de F_{tab} para análise de variância.

n_2	n_1										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,70
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,03
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,60
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,31
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,10
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,94
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,82
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,72
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,63
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,56
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,51
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,45
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,41
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,37
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,34
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,31
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,28
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,26
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,24
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,22
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,20
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,18
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,16
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,15
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,14
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,12
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,04
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,95
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,86

Fonte: Adaptado de ABNT, NBR 13526, 1995.

APÊNDICE G – Valores críticos q para o Teste de Tukey.

n_1	P									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15
1	17,97	26,98	32,82	37,08	40,41	43,12	45,40	47,36	49,07	55,36
2	6,08	8,33	9,80	10,88	11,74	12,44	13,03	13,54	13,99	15,65
3	4,50	5,91	6,82	7,50	8,04	8,48	8,85	9,18	9,45	10,53
4	3,93	5,04	5,76	6,29	6,71	7,05	7,35	7,60	7,83	8,66
5	3,64	4,60	5,22	5,67	6,03	6,33	6,58	6,80	6,99	7,72
6	3,46	4,34	4,90	5,30	5,63	5,90	6,12	6,32	6,49	7,14
7	3,34	4,16	4,68	5,06	5,35	5,61	5,82	6,00	6,16	6,76
8	3,26	4,04	4,53	4,89	5,17	5,40	5,60	5,77	5,92	6,48
9	3,20	3,95	4,41	4,76	5,02	5,24	5,43	5,59	5,74	6,28
10	3,15	3,88	4,33	4,65	4,91	5,12	5,30	5,46	5,60	6,11
11	3,11	3,82	4,26	4,57	4,82	5,03	5,20	5,35	5,49	5,98
12	3,08	3,77	4,20	4,51	4,75	4,95	5,12	5,27	5,39	5,88
13	3,06	3,73	4,15	4,45	4,69	4,88	5,05	5,19	5,32	5,79
14	3,03	3,70	4,11	4,41	4,64	4,83	4,99	5,13	5,25	5,71
15	3,01	3,67	4,08	4,37	4,59	4,78	4,94	5,08	5,20	5,65
16	3,00	3,65	4,05	4,33	4,56	4,74	4,90	5,03	5,15	5,59
17	2,98	3,63	4,02	4,30	4,52	4,70	4,86	4,99	5,11	5,54
18	2,97	3,61	4,00	4,28	4,49	4,67	4,82	4,96	5,07	5,50
19	2,96	3,59	3,98	4,25	4,47	4,65	4,79	4,92	5,04	5,46
20	2,95	3,58	3,96	4,23	4,45	4,62	4,77	4,90	5,01	5,43
24	2,92	3,53	3,90	4,17	4,37	4,54	4,68	4,81	4,92	5,32
30	2,89	3,49	3,85	4,10	4,30	4,46	4,60	4,72	4,82	5,21
40	2,80	3,44	3,79	4,04	4,23	4,39	4,52	4,63	4,73	5,11
60	2,83	3,40	3,74	3,98	4,16	4,31	4,44	4,55	4,65	5,00
120	2,80	3,36	3,68	3,92	4,10	4,24	4,36	4,47	4,56	4,90
∞	2,77	3,31	3,63	3,86	4,03	4,17	4,29	4,39	4,47	4,80

Fonte: Adaptado de Instituto Adolfo Lutz, 2008

ANEXO A – Certificado de calibração do termopar INSTRUTHERM®.

INSTRUTHERM

LABORATÓRIO DE CALIBRAÇÃO INSTRUTHERM

Certificado de Calibração

Nº 89674/18

Folha 01/01

Cliente: FLAVIO ARAUJO POUSA PAIVA
Endereço: RUA TOBIAS ROSA, 278 - APTO 302 Bairro: NOSSA SENHORA DA ABADIA Cep: 38025-370 UBERABA - MG
Item Calibrado: TERMOMETRO **Nº Código de barra / Nº Série:** 17112701237433 / S232674
Marca: INSTRUTHERM **Modelo:** TH-1600
O.S. Nº: 182802 **Data de Calibração:** 16/7/2018

Condições Ambientais Aplicáveis à Calibração

Temperatura durante a calibração: 23±3°C **Umidade relativa durante a calibração:** 45 a 65% (U.R)

Metodologia de Calibração

Procedimento de Calibração: PCI - 013 - Rev. 0 - Foi realizada a calibração através do processo de comparação com um padrão rastreado.

Padrões Utilizados

LCI 16 - FLUKE 5520A - 1118010 - Certificado de Calibração nº RI 3947/17 - RBC CAL 0250 Validade até 03/2019
LCI 142 - INSTRUTHERM HT-700 - 14121501088316 - Certificado de Calibração nº CAL-150471/17 - RBC CAL 0056 Validade até 08/2018

Resultados Obtidos

TEMPERATURA (Simulação Elétrica)

Valor Indicado no Instrumento Calibrado (°C)	Valor Convencional	Erro (°C)	Incerteza (± °C)	K
-19,9	-20,0	0,1	1,0	2,00
500,4	500,0	0,4	1,0	2,00
1001,0	1000,0	1,0	1,0	2,00

Notas

A incerteza expandida relatada é baseada em uma incerteza padronizada combinada e multiplicada pelos fatores de abrangência "k" informados nas tabelas, para um nível de confiança de aproximadamente 95%.

Os resultados acima apresentados referem-se exclusivamente ao item calibrado e às condições supra mencionadas.
Os serviços de calibração são realizados e controlados pela INSTRUTHERM-Instrumentos de Medição Ltda. O presente certificado somente pode ser reproduzido na sua forma e conteúdo integrais e sem alterações. Não pode ser utilizado para fins promocionais.

Data de emissão do certificado: 17/7/2018

LABORATÓRIO DE CALIBRAÇÃO INSTRUTHERM
Cristiano José Mollica
Gerente Técnico

INSTRUTHERM INSTRUMENTOS DE MEDIÇÃO LTDA
Rua Jorge de Freitas, 264 - Freguesia do Ó - São Paulo - SP - CEP: 02911-030
Inscrição no CNPJ nº: 53.775.862/0001-52 - Inscrição Estadual nº: 111.093.664.118 - Inscrição no CCM nº: 9.155.648-1
Tel: (11) 2144-2800 E-mail: instrutherm@instrutherm.com.br Site: www.instrutherm.com.br

Fonte: INSTRUTHERM, 2018.