

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

AUGUSTO CÉSAR JANUARIO

**EMPREGO DE DUAS NOVAS CEPAS DE LEVEDURA NACIONAL NA
PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL TIPO ALE**

POÇOS DE CALDAS

2019

AUGUSTO CÉSAR JANUARIO

**EMPREGO DE DUAS NOVAS CEPAS DE LEVEDURA NACIONAL NA
PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL TIPO ALE**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Marlus Pinheiro Rolemberg

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Daniela Battaglia Hirata

POÇOS DE CALDAS/MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca campus Poços de caldas

Januario, Augusto César.
J35e Emprego de duas novas cepas de levedura nacional na produção
de cerveja artesanal tipo Ale / Augusto César Januario. – Poços de
Caldas/MG, 2019.
68 f. –

Orientador(a): Marlus Pinheiro Rolemberg.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade
Federal de Alfenas, campus Poços de Caldas, 2019.
Bibliografia.

1. Leveduras. 2. Bebidas fermentadas. 3. Cerveja. I. Rolemberg,
Marlus Pinheiro. II. Título.

CDD – 660.2

AUGUSTO CÉSAR JANUARIO

**EMPREGO DE DUAS NOVAS CEPAS DE LEVEDURA NACIONAL NA
PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL TIPO ALE**

A Banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Engenharia Química:

Aprovado em: 26/04/2019

Prof: Dr. Marlus Pereira Rolemberg
Instituição: Universidade Federal de Alfenas


Assinatura:

Prof. Dr.: Romildo Martins Sampaio
Instituição: Universidade Federal do Maranhão


Assinatura:

Prof. Dr.: Rodrigo Corrêa Basso
Instituição: Universidade Federal de Alfenas


Assinatura:

POÇOS DE CALDAS/MG

2019

Dedico aos meus pais, irmão,
família e amigos pelo apoio na
realização deste trabalho

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Cássio e Maria Rita, pelo amor, carinho, dedicação, paciência, coragem e por estarem ao meu lado sempre, em todas as situações com seus conselhos e exemplos. Obrigado!

A Prof. Dr. Marlus Pereira Rolemberg, orientador e profa. Dra. Daniela Battaglia Hirata, coorientadora, pela dedicação, conhecimentos transmitidos e confiança depositada na realização deste trabalho.

Aos meus amigos José Américo e Thiago, amizades feitas durante esse período de estudos e que serão levadas pela vida.

Aos meus amigos Loran e Estevão que acompanharam essa jornada e pesquisa pelo mundo da cerveja.

A todas as pessoas que me apoiaram e contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho acontecer.

Aos colaboradores, UFMG através do Prof^o Carlos Augusto Rosa, a Brasil Kirin e a Agrária, pela doação das leveduras e dos insumos para a produção de cerveja.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química pela política de incentivo à produção acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*Não ouse desistir de tudo o que
você sonhou.*

(Rodrigo Tavares)

RESUMO

A descoberta de novas leveduras, eficientes, é muito importante principalmente para as microcervejarias, já que 99,0% das leveduras utilizadas no Brasil são de origem estrangeira. Por esse motivo a proposta do presente trabalho foi estudar o comportamento cinético de duas novas cepas de levedura *Saccharomyces Cerevisiae*, do tipo Ale (alta fermentação) durante o processo de produção de cerveja, e verificar o padrão de qualidade através de análises físico-químicas e sensoriais. Foram elaborados lotes de 30 litros de diferentes cervejas, com a finalidade de averiguar-se em qual estilo a levedura teria melhor fermentação e perfil de sabores. As cervejas foram produzidas segundo os métodos apresentados por Palmer, J. (2006), em uma Cozinha Cervejeira da marca MecBeir, com controle de temperatura para a brasagem e uma bomba automática para recirculação do mosto. O mosto foi dividido em três fermentadores, com volume de 10 litros, onde em um foi inoculado um fermento já comercializado, enquanto nos outros foram utilizadas as novas leveduras. Foi determinada a cinética fermentativa através de análises da quantidade de açúcares no mosto, comparando os resultados das novas leveduras com a comercial. Ao final do trabalho foram realizadas as análises físico-químicas os métodos da American Society Of Brewing Chemists (ASBC) comprovando a qualidade da cerveja mostrando que ela estava dentro dos padrões exigidos pelo MAPA. Nas análises sensoriais foram avaliados os atributos de aroma, sabor, formação de espuma, aparência e impressão global através da escala hedônica estruturada de nove pontos, demonstrando que a cerveja produzida agradou aos voluntários.

Palavras-Chave: Levedura. Cinética Fermentativa. Cerveja.

ABSTRACT

The identification of new efficient yeast is really important, especially for the microbreweries, since 99% of the yeasts used in Brazil are foreign. We have studied the kinetic yeast strains behavior, which are new kinds of *Sacharomyces Cerevisiae*, an Ale type (high fermentation), during the beer's fermentation process, we saw a high-quality pattern through the physicochemical and sensory analyses. We made plenty of thirty liters of different kinds of beer to check in which one the yeast has a better fermentation and a better taste. The production followed the steps predicted in the book *How to brew* and it was made in the kitchen branded Mecbeir, with temperature and brazing control and an automatic pump for the must recirculation. The must was divided in three brewers, ten liters each, and it was inoculated a commercial yeast in one of them while the new ones were used in the other – three brewers each – to verify the fermentation's reproducibility. It was determined the fermentative kinetic through the amount of sugar in the must and we found, comparing the different types of yeasts, that the new ones have a good power fermentation and that the process happens in a short time-period – between seven and twelve days. By the end, happened physicochemical analyses following the methodology from the American Society of Brewing Chemists (ASBC) proving the beer's quality and showing it was inside the patterns demanded from MAPA. In the analysis, it was seen the aroma, taste, foaming, appearance and overall impression through the structured hedonic scale of nine points, demonstrating that beer produced pleased volunteers.

Keywords: Yeast. Fermentative Kinetic. Beer.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Efeitos dos íons encontrados na água para a produção de cerveja.....	23
TABELA 2 - Grupos enzimáticos e suas funções.....	25
TABELA 3 - Composição química da flor de lúpulo	26
TABELA 4 - Codificação das Amostras para análise sensorial.....	44
TABELA 5 - Valores Médios para o Teste de Perfil Sensorial da Cerveja Stout.....	45
TABELA 6 - Anova aplicada aos valores de Impressão Global para a Cerveja Stout.....	47
TABELA 7 - Valores Médios para o Teste de Perfil Sensorial da Cerveja Kolsh.....	47
TABELA 8 - Anova aplicada aos valores de Impressão Global para a Cerveja Kolsh.....	48

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 -	Crescimento celular do inóculo para a cerveja tipo Stout.....	39
GRÁFICO 2 -	Crescimento celular do inóculo para a cerveja tipo Kolsh.....	39
GRÁFICO 3 -	Crescimento celular durante a fermentação da cerveja tipo Stout.....	41
GRÁFICO 4 -	Crescimento celular durante a fermentação da cerveja tipo Kolsh.....	41
GRÁFICO 5 -	Concentração do Mosto (P) e Graduação Alcólica para a Stout (% v/v).....	43
GRÁFICO 6 -	Concentração do Mosto (P) e Graduação Alcólica para a Stout (% v/v).....	44
GRÁFICO 7 -	Perfil Sensorial da cerveja Stout.....	46
GRÁFICO 8 -	Perfil Sensorial da cerveja Kolsh.....	48
GRÁFICO 9 -	Análise de mercado da cerveja Stout.....	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVO.....	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVO ESPECIFICO	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1	O SETOR CERVEJEIRO.....	16
3.2	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE A CERVEJA.....	16
3.3	HISTÓRIA DA CERVEJA.....	21
3.4	MATÉRIA-PRIMA.....	22
3.4.1	Água.....	23
3.4.2	Malte.....	24
3.4.3	Lúpulo.....	25
3.5	LEVEDURAS CERVEJEIRAS.....	27
3.5.1	Fermentação Alcoólica na Cerveja	28
3.5.2	Metabolismo Secundário.....	29
3.6	ETAPAS DA PRODUÇÃO DE CERVEJA.....	29
3.6.1	Moagem.....	30
3.6.2	Mostura.....	30
3.6.3	Filtragem/Lavagem.....	30
3.6.4	Fervura.....	31
3.6.5	Resfriamento.....	31
3.6.6	Fermentação.....	31
3.6.7	Maturação.....	32
3.6.8	Envaze.....	32
4	METODOLOGIA.....	33
4.1	REPIQUE DAS LEVEDURAS.....	33
4.2	PREPARAÇÃO DO INOCULO DAS LEVEDURAS.....	34
4.3	MÉTODO ALL-GRAIN	34
4.4	DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR.....	36
4.5	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO MOSTO E DA CONCENTRAÇÃO DE ETANOL.....	36
4.6	ANÁLISES SENSORIAIS.....	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	MONITORAMENTO DA CONCENTRAÇÃO CELULAR DAS LEVEDURAS.....	38
5.1.1	Preparação do Inóculo.....	38
5.1.2	Crescimento Celular durante a Fermentação.....	40
5.2	ANÁLISE DO MOSTO.....	42
5.2.1	Concentração do Mosto e Grau Alcoólico.....	43

5.3	ANÁLISES SENSORIAL.....	44
5.3.1	Perfil Sensorial.....	45
5.3.2	Aceitação de Mercado.....	49
6	CONCLUSÕES.....	51
	REFERÊNCIAS.....	53
	APÊNDICES.....	57

1 INTRODUÇÃO

O setor cervejeiro é um dos mais tradicionais do país, os primeiros exemplares da bebida foram trazidos em 1808, por Dom João VI, já a Manufatura de Cerveja Brahma Villiguer e Cia, fundada em 1888, foi a primeira cervejaria brasileira (SCHIMIDELL *et al.*, 2001b).

A cadeia produtiva da cerveja é muito ramificada e está presente em todas as cidades do país, abrangendo do agronegócio ao pequeno varejo, mercados de embalagens, logística e maquinário, no ano de 2016 contribuiu com 1,6% do PIB e 14% da indústria de transformação nacional (CERVBRASIL, 2016). Estudos históricos apontam que as primeiras bebidas fermentadas surgiram há 30.000 mil anos atrás. Há relatos sobre a produção de cerveja na antiga Mesopotâmia (atual Iraque), que datam de 8000 a.C (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011), e seu surgimento está diretamente ligado a domesticação dos cereais de que era feita e a adoção da agricultura (STANDAGE, 2005).

A fabricação da cerveja vem de milhares de anos, durante os quais sofreu aprimoramento técnico visando o aumento de sua produção e de seu consumo. No século XIII cervejeiros germânicos foram os primeiros a utilizar o lúpulo no processo de fabricação de cerveja, dando origem as características do produto que conhecemos hoje. As mudanças mais significativas aconteceram durante a Revolução Industrial, principalmente na Inglaterra, Alemanha e no Império Austro-Húngaro, com o surgimento de fábricas de cerveja cada vez maiores (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

Hoje é estimado existirem mais de 20 mil formulações diferentes de cerveja, o que faz ser possível essa grande variedade é mudanças no processo de obtenção da bebida; como o tempo e temperatura nas etapas de mosturação, fermentação, maturação e o uso de ingredientes diferenciados como trigo, milho, centeio, arroz, mel, mandioca ou frutas (BRUNELLI, 2012).

Obtida através da mistura de água, malte, lúpulo e fermentada pela ação de leveduras, a cerveja utiliza poucos tipos de matéria-prima, e a esses ingredientes podem ser acrescentados adjuntos (arroz, trigo, milho, sorgo) malteados ou não, com o

intuito de modificar suas características sensoriais ou diminuir o preço do produto final, uma vez que elas são uma fonte de amido com um custo menor se comparado aos maltes de cevada (BATISTA, 2014).

Atualmente há um crescente aumento de microcervejarias e cervejeiros caseiros no Brasil, esse é um movimento confirmado por especialistas, fabricantes e cervejeiros, seguindo o movimento iniciado em outras partes do mundo, como nos Estados Unidos (BRUNELLI, 2012), comprovando este fato com números em 2018 foram abertas 210 novas fabricas, chegando a um total de 889 cervejaria ou microcervejarias no país (MAPA, 2019).

Sendo que a qualidade e o preço destes materiais dificultam a sua produção, principalmente das microcervejarias e dos cervejeiros caseiros. Um exemplo desta dificuldade é a utilização do malte. A produção nacional de malte atende apenas um terço da demanda do mercado (CEVERI, 2012), sendo que a maioria dos grãos é destinada às grandes cervejarias. As cervejarias menores que produzem uma cerveja que necessitam de maltes especiais necessitam importa-los de países da Europa.

As leveduras são micro-organismos unicelulares pertencentes ao reino fungi, responsáveis pela fermentação do mosto cervejeiro o convertendo em cerveja também pode ser um ponto problemático para as microcervejarias nacionais. Diferentemente das indústrias de grande porte, que possuem laboratórios para estudar, melhorar e produzir as suas cepas, as pequenas precisam comprar as suas de outros fornecedores e estudam indicam que 99,0% das leveduras utilizadas nas microcervejarias são importadas (DIÁRIO CATARINENSE, 2015).

Segundo a Associação Brasileira de Cerveja Artesanal (ABRACERVA) atualmente o mercado de cervejas artesanais está em constante expansão, as micro cervejarias são responsáveis por 1,0% da cerveja produzida e por cerca de 2,5% da receita de vendas no país, tendo potencial para triplicar essa participação no mercado em até dez anos.

Com este eminente potencial para crescer é necessário o estudo de novas tecnologias e matérias-primas nacionais, para que as microcervejarias consigam conquistar uma fatia maior no mercado e assim aumentar sua contribuição no mercado cervejeiro nacional.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso de duas novas cepas de levedura *Saccharomyces cerevisiae* na produção de dois diferentes estilos de cerveja Ale.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Produzir cervejas do Estilo Kolsh e Stout como as novas leveduras;
- b) Verificar a eficiência das duas novas leveduras, avaliando com análises físico-químicas (densidade, °Plato, teor alcoólico) e análises microbiológicas (contagem celular) o consumo de açúcar presente no mosto, a produção de álcool e o crescimento celular as cepas durante a etapa de fermentação;
- c) Verificar a aceitabilidade das cervejas com a realização de análises sensoriais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste tópico será apresentada uma pequena revisão sobre o processo de fermentação alcoólica e cinética de processos fermentativos.

Será discutida de uma forma breve a história da cerveja, para se entender a origem e evolução do processo de fabricação através do tempo, e também sobre as matérias-primas utilizadas, juntamente com a legislação brasileira que classifica a cerveja e o método de produção da bebida.

3.1 O SETOR CERVEJEIRO

No Brasil, a produção atual de cervejas é de 14 bilhões de litros e o consumo per capita de 66,9 litros/hab/ano, tendo um importante espaço na economia brasileira, em 2016 foi responsável por 1,6% do PIB (Produto Interno Bruto) nacional, e arrecadou 23 bilhões de reais em impostos. A cadeia produtiva da indústria cervejeira gera direta ou indiretamente 2,2 milhões de empregos, movimenta 27 bilhões de reais em salários, e cada 1 real investido no setor tem um retorno de 2,50 reais (CERVBRASIL, 2017).

As cervejarias artesanais tem uma fatia de 0,7% deste mercado, tendo um grande potencial de crescimento (FIGUEIRÊDO, 2017), em 2018 foram abertas 210 novas cervejarias, sendo a grande maioria artesanais, Com esses números temos marca de, aproximadamente, a cada dois dias uma fábrica (MAPA, 2018).

3.2 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE A CERVEJA

O Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009 que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994 estabelece parâmetros a serem seguidos para a produção da bebida e classifica a cerveja quanto extrato primitivo, a cor, a proporção de malte de cevada, e o tipo de fermentação.

§ 1 o O malte de cevada usado na elaboração de cerveja e o lúpulo poderão ser substituídos por seus respectivos extratos.

§ 2 o Malte é o produto obtido pela germinação e secagem da cevada, devendo o malte de outros cereais ter a designação acrescida do nome do cereal de sua origem.

§ 3 o Extrato de malte é o resultante da desidratação do mosto de malte até o estado sólido, ou pastoso, devendo, quando reconstituído, apresentar as propriedades do mosto de malte.

§ 4 o Parte do malte de cevada poderá ser substituído por adjuntos cervejeiros, cujo emprego não poderá ser superior a quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo.

§ 5 o Consideram-se adjuntos cervejeiros a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não-malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal.

§ 6 o Quando se tratarem de açúcares vegetais diferentes dos provenientes de cereais, a quantidade máxima de açúcar empregada em relação ao seu extrato primitivo será:

I - na cerveja clara, menor ou igual a dez por cento em peso;10

II - na cerveja escura, menor ou igual a cinqüenta por cento em peso, podendo conferir ao produto acabado as características de adoçante; e

III - na cerveja extra, menor ou igual a dez por cento do extrato primitivo.

§ 7 o Carboidratos transformados são os derivados da parte amilácea dos cereais obtidos por meio de transformações enzimáticas.

§ 8 o Mosto cervejeiro é a solução, em água potável, de carboidratos, proteínas, glicídios e sais minerais, resultantes da degradação enzimática dos componentes da matéria-prima que compõem o mosto.

§ 9 o Mosto lupulado é o mosto fervido com lúpulo ou seu extrato, e dele apresentando os princípios aromáticos e amargos, ficando estabelecido que:

I - lúpulo são os cones da inflorescência do *Humulus lupulus*, em sua forma natural ou industrializada, aptos para o consumo humano; e

II - extrato de lúpulo é o resultante da extração, por solvente adequado, dos princípios aromáticos ou amargos do lúpulo, isomerizados ou não, reduzidos ou não,

devendo o produto final estar isento de solvente.

§ 10. Extrato primitivo ou original é o extrato do mosto de malte de origem da cerveja.

Art. 37. Das características de identidade da cerveja deverá ser observado o seguinte:

I - a cor da cerveja deverá ser proveniente das substâncias corantes do malte da cevada, sendo que:

a) para corrigir ou intensificar a cor da cerveja, é permitido o uso do corante caramelo, e de corantes naturais previstos em legislação específica;

b) na cerveja escura será permitido somente o uso de corante caramelo;

c) admite-se a utilização de corante natural, autorizados pela legislação própria, com a finalidade de padronizar a cor das cervejas definidas nos arts. 40, 41 e 42;

II - para fermentação do mosto, será usada a levedura cervejeira;

III - a cerveja deverá ser estabilizada biologicamente por processo físico apropriado, podendo ser denominada de Chope ou Chopp a cerveja não submetida a processo de pasteurização para o envase;¹¹

IV - a água potável empregada na elaboração da cerveja poderá ser tratada com substâncias químicas, por processo físico ou outro que lhe assegure as

características desejadas para boa qualidade do produto, em conjunto ou separadamente; e

V - a cerveja deverá apresentar, a vinte graus Celsius, pressão mínima de atmosfera de gás carbônico proveniente da fermentação, sendo permitida a correção por dióxido de carbono ou nitrogênio, industrialmente puros.

Art. 38. As cervejas são classificadas:

I - quanto ao extrato primitivo, em:

a) cerveja leve, definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é

maior ou igual a cinco por cento em peso e menor que dez e meio por cento em peso, podendo

denominar-se cerveja light a cerveja leve que cumpra também, cumulativamente, os requisitos

constantes dos itens 1 e 2, seguintes:

1. redução de vinte e cinco por cento do conteúdo de nutrientes ou do valor energético com relação a uma cerveja similar do mesmo fabricante (mesma marca

comercial), ou do valor médio do conteúdo de três cervejas similares conhecidas e que sejam

produzidas na região; e

2. valor energético da cerveja pronta para o consumo deve ser no máximo de trinta e cinco quilocalorias por cem mililitros;

b) cerveja ou cerveja comum, definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior ou igual a dez e meio por cento em peso e menor que doze por cento

em peso;

c) cerveja extra, definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior ou igual a doze por cento em peso e menor ou igual a quatorze por cento em peso; ou

d) cerveja forte, definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior que quatorze por cento em peso;

II - quanto à cor, em:

a) cerveja clara, a que tiver cor correspondente a menos de vinte unidades EBC (European Brewery Convention);

b) cerveja escura, a que tiver cor correspondente a vinte ou mais unidades EBC (European Brewery Convention); ou

c) cerveja colorida, a que, pela ação de corantes naturais, apresentar coloração diferente das definidas no padrão EBC (European Brewery Convention);

III - quanto ao teor alcoólico, em:

a) cerveja sem álcool, quando seu conteúdo em álcool for menor ou igual a meio por cento em volume, não sendo obrigatória a declaração no rótulo do conteúdo

alcoólico; ou

b) cerveja com álcool, quando seu conteúdo em álcool for superior a

meio por cento em volume, devendo obrigatoriamente constar no rótulo o percentual de álcool

em volume;

IV - quanto à proporção de malte de cevada, em:

a) cerveja de puro malte, aquela que possuir cem por cento de malte de cevada, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares;

b) cerveja, aquela que possuir proporção de malte de cevada maior ou igual a cinquenta e cinco por cento em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de

açúcares; ou

c) “cerveja de ...”, seguida do nome do vegetal predominante, aquela que possuir proporção de malte de cevada maior que vinte por cento e menor que cinquenta e

cinco por cento, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares;

V - quanto à fermentação, em:

a) de baixa fermentação; ou

b) de alta fermentação.

Art. 39. De acordo com o seu tipo, a cerveja poderá ser denominada:

Pilsen, Export, Lager, Dortmunder, Munchen, Bock, Malzbier, Ale, Stout, Porter, Weissbier,

Alt e outras denominações internacionalmente reconhecidas que vierem a ser criadas,

observadas as características do produto original.

Art. 40. A cerveja poderá ser adicionada de suco ou extrato de vegetal,

ou ambos, que poderão ser substituídos, total ou parcialmente, por óleo essencial, essência

natural ou destilado vegetal de sua origem.

Art. 41. A cerveja adicionada de suco de vegetal deverá ser

denominada “cerveja com ...”, acrescida do nome do vegetal.¹³

Art. 42. Quando o suco natural for substituído total ou parcialmente

pelo óleo essencial, essência natural ou destilado do vegetal de sua origem, será denominada

“cerveja sabor de ...”, acrescida do nome do vegetal.

Art. 43. Ficam proibidas as seguintes práticas no processo de

produção de cerveja:

- I - adicionar qualquer tipo de álcool, qualquer que seja sua procedência;
- II - utilizar saponinas ou outras substâncias espumíferas, não autorizadas expressamente;
- III - substituir o lúpulo ou seus derivados por outros princípios amargos;
- IV - adicionar água fora das fábricas ou plantas engarrafadoras;
- V - utilizar aromatizantes, flavorizantes e corantes artificiais na elaboração da cerveja;
- VI - efetuar a estabilização ou a conservação biológica por meio de processos químicos;
- VII - utilizar edulcorantes artificiais; e
- VIII - utilizar estabilizantes químicos não autorizados expressamente.

3.3 HISTÓRIA DA CERVEJA

Nos primórdios da vida do 'homem moderno', o *Homo sapiens sapiens*, era um ser nômade, vagando em busca das melhores condições de sobrevivência (água e alimento). Com a mudança de seus hábitos trocou a caça e a coleta pelo cultivo de plantas e domesticação de animais. As primeiras espécies vegetais intencionalmente cultivadas foram o trigo e a cevada, matérias-primas básicas para a produção de cerveja (STANDAGE, 2005).

Estima-se que a bebida surgiu há cerca de 10.000 anos a.C., ao passo que os primeiros relatos de consumo datam de 4.000 anos a.C. na antiga Mesopotâmia, atual Iraque quando um jarro contendo uma sopa preparada com grãos de cevada foi deixado exposto ao ambiente por alguns dias. Com o passar do tempo, leveduras selvagens presentes no ar entraram em contato com a sopa e passaram a fermentar o açúcar presente e transforma o alimento em uma bebida ligeiramente efervescente e "agradavelmente embriagante" dando origem a primeira cerveja conhecida (STANDAGE, 2005).

Durante idade média o lúpulo passou a ser utilizado como matéria-prima e a produção da cerveja aumentou devido ao início da produção em maior escala. Neste período, ingredientes de todas as espécies eram utilizados na elaboração da cerveja. Para melhor a qualidade e padronizar a produção, o Duque Guilherme IV da Bavária / Alemanha, em 1516, sancionou a lei mais antiga do mundo sobre a manipulação de alimentos, a lei alemã *Reinheitsgebot*, que determinava que a cerveja deveria ser produzida somente com cevada, lúpulo e água, a levedura não era conhecida na época (SILVA, 2005).

Com o passar dos anos, os métodos de produção e distribuição foram evoluindo. As mudanças mais significativas aconteceram durante a Revolução Industrial, principalmente na Inglaterra, Alemanha e no Império Austro-Húngaro, com o surgimento de fábricas de cerveja cada vez maiores (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

No Brasil a cerveja foi trazida em 1808, por Dom João VI, que era um apreciador da bebida. A Manufatura de Cerveja Brahma Villiquier e Cia, fundada em 1888, foi a primeira cervejaria brasileira (SCHIMIDELL *et al*, 2001).

3.4 MATÉRIA-PRIMA

Segundo artigo 64 Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009 que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994:

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.

Dessa forma, as matérias-primas para a fabricação de cerveja são: água, malte, lúpulo, mas também poder ser utilizados outros adjuntos, gerando características bastante peculiares.

A levedura não pode ser considerada matéria-prima, uma vez que é o agente responsável pelas transformações bioquímicas dos ingredientes utilizados na produção da cerveja, por meio da fermentação alcoólica (SCHIMIDELL *et al*, 2001a)

3.4.1 Água

Matéria-prima mais abundante na produção de cerveja, a água chega a ser até 92,0% da composição do produto final (TOZETTO, 2017), deve ser livre de impurezas, filtrada, sem cloro, sabor e cheiro, inócua, livre de contaminações, para servir de nutriente para as leveduras fermentativas apresentar características para manter o pH dentro da faixa necessária após a mistura com o malte durante a mosturação e também ser capaz de extrair os sabores e aromas do lúpulo durante a fervura; permitir uma fermentação asséptica e desenvolver a cor, sabor e aroma do tipo da cerveja a ser fabricada (SCHIMIDELL *et al*, 2001b).

Um dos fatores de extrema importância para a produção de uma boa cerveja são os sais minerais (íons) dissolvidos na água. Antigamente cada tipo de cerveja era produzido na região que possuía a água “adequada” (quantidade de sais minerais dissolvidos) para seu estilo, hoje a desmineralização da água cervejeira, e a posterior adição de sais para fornecer a composição iônica desejada permite às cervejarias conseguir a água apropriada para qualquer estilo de cerveja (BATISTA, 2014).

A concentração de íons na água pode afetar atividade de enzimas e o crescimento das leveduras causando impacto positivo ou negativo na aparência, o sabor e o aroma de uma cerveja.

Na Tabela 1 estão listados os íons que afetam na produção de cerveja, a concentração mínima e máxima de cada um, e os efeitos causados por eles.

Tabela 1 - Efeitos dos íons encontrados na água para a produção de cerveja

ÍON	CONCENTRAÇÃO (PPM)	EFEITO
CÁLCIO (Ca²⁺)	50 – 150	<ul style="list-style-type: none"> • Atua protegendo as enzimas contra a desnaturação. • Colabora estabilidade da cerveja. • Em excesso pode prejudicar o a fermentação.

(continua)

Tabela 1 - Efeitos dos íons encontrados na água para a produção de cerveja

(conclusão)

ÍON	CONCENTRAÇÃO (PPM)	EFEITO
MAGNÉSIO (Mg⁺⁺)	10-70	<ul style="list-style-type: none"> Em pequena quantidade (10 – 20 ppm) é um excelente nutriente para a levedura.
BICARBONATO (HCO₃⁻¹)	Cervejas claras: 25-50 Cervejas escuras: 100-300	<ul style="list-style-type: none"> Aumenta o pH do mosto.
SÓDIO (Na⁺)	70-150	<ul style="list-style-type: none"> Arredonda os sabores de cerveja, acentuando a doçura do malte. Em concentrações acima de 200ppm conferem sabor salgado/mineral.
SULFATO (SO₄⁻²)	Cervejas amargas: 50-150 Cervejas muito amargas: 150-350	<ul style="list-style-type: none"> Acentua amargor do lúpulo fazendo parecer mais seco. Em concentrações maiores que 400 ppm pode tornar-se adstringente.
CLORETO (CL⁻)	0-250	<ul style="list-style-type: none"> Ajuda a acentuar a doçura do malte. Em concentrações acima de 250 ppm pode conferir sabor salgado.

Fonte: Adaptado de Henrik (2011).

3.4.2. MALTE

O malte é resultado do processamento dos grãos de cevada ou trigo e responsável pelo “corpo” e dulçor da cerveja, colaborando para a formação da espuma, além de fornecer enzimas capazes de quebrar os amidos e proteínas presentes em seus grãos, transformando-os em açúcares fermentáveis (LEWIS; YOUNG, 2002). Existem dois tipos de cevada, a de duas fileiras produz grãos maiores e com maior quantidade de amido em relação à casca, e a de seis que apresenta uma

maior concentração de enzimas que convertem o amido em açúcar (FIGUEIRÊDO, 2017).

Estes grãos são germinados em ambientes controlados, com temperatura e umidade pré-determinados para que ocorra a ativação das enzimas contidas na semente, logo após, a fim de parar o desenvolvimento da planta, os grãos passam por um processo de secagem, dando origem aos maltes bases (malte presente em maior quantidade na receita da cerveja) (SILVA, 2005).

Os principais grupos enzimáticos presentes no malte são apresentados na Tabela 2 e seu funcionamento será explicado nas próximas seções.

Tabela 2 - Grupos enzimáticos e suas funções

ENZIMA	FAIXA DE TEMPERATURA (°C)	FAIXA DE PH	FUNÇÃO
DESRAMIFICADORA	35 – 45	5,0 – 5,8	Solubilização de amidos.
PROTEASE	45 – 55	4,6 - 5,3	Quebra grandes proteínas que causam turbidez.
B-AMILASE	55 - 66,1	5,0 - 5,5	Produz maltose.
A-AMILASE	67,8 - 72,2	5,3 - 5,7	Produz uma variedade de açúcares, incluindo maltose.

Fonte: Adaptado de Palmer (2006).

3.4.2 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta trepadeira nativas das regiões temperadas da América do Norte, Europa e Ásia (PALMER, 2006), atinge entre cinco e sete metros de altura. É da família *Cannabaceae*, mas não possui o efeito alucinógeno que outras plantas desta mesma família (SCHIMIDELL *et al*, 2001b).

As plantas machos e fêmeas crescem separadas, sendo utilizada para a produção de cerveja apenas as fêmeas por serem as únicas que florescem, presentes nas flores as brácteas e as bractéolas formam uma bolsa onde são alojados os

grânulos de lupulina que guardam os óleos essenciais e os α e β ácidos responsáveis por conferir o sabor e aroma de lúpulo para a cerveja (SILVA, 2005). Além dos óleos essenciais e os α e β ácidos, a flor de lúpulo tem em sua composição química: água, proteínas, resinas, taninos, celulose e cinzas, a porcentagem de cada componente está expressa na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição química da flor de lúpulo

Componente	Porcentagem (%)
Água	8-14
Proteínas	12-24
Resinas	12-21
α -ácido	3-15
β -ácido	3-6
Taninos	2-6
Celulose	10-17
Cinzas	7-10
Óleos essenciais	0,5-2

Fonte: Adaptado de Silva (2005).

Os óleos essenciais são responsáveis por conferir o aroma de lúpulo à cerveja, os principais estão citados abaixo (REINOLD, 1997):

- Humulene: óleo primário e responsável pelo aroma lupulado característico;
- Caryophyllene: confere aroma amadeirado e lupulado;
- Farnesene: existe em pouquíssima quantidade (por volta de 1%). Tem características amadeiradas e terrosas;
- Myrcene: é o óleo mais abundante na flor de lúpulo tendo fragrâncias herbáceas, uva, pêssego e amadeirada.

Os α e β ácidos dão o sabor amargo para cerveja, sendo o α -ácido o agente principal, eles são insolúveis em água até o momento da fervura do mosto, onde o calor causa a isomerização destes transformando-os em iso- α -ácidos que são solúveis em água (PALMER, 2006).

O lúpulo pode ser comercializado em forma de cones secos (flores), extrato ou peletes, os dois últimos possuem um teor de α -ácido maior e também sofrem menos degradação mesmo quando estocados em temperatura ambiente (SCHIMIDELL *et al*, 2001b).

3.5 LEVEDURAS CERVEJEIRAS

As leveduras são micro-organismos unicelulares pertencentes ao reino fungi, que se reproduzem por brotamento (SCHIMIDELL *et al*, 2001a), responsáveis pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, consumindo os açúcares fermentescíveis gerando álcool, dióxido carbônico, energia na forma de ATP e calor (FIGUEIRÊDO, 2017).

Com várias linhagens consideradas eficientes para a produção de cerveja a *Saccharomyces* se divide em diversas linhagens, sendo as duas mais importantes as ales (alta fermentação: temperatura de fermentação mais elevada, entre 15 e 24°C e após o processo as células formam flocos na parte superior do fermentador) e *Saccharomyces uvarum* para produção de *lagers* (baixa fermentação: temperatura de fermentação entre 7 e 13°C e após o processo as células decantam na parte inferior do fermentador) (SCHIMIDELL *et al*, 2001a).

Além da temperatura de trabalho, outro fator que difere as leveduras do tipo Ale e Lager é o gene MEL, ele está presente nas cepas Lager e é responsável por produzir a enzima extracelular α -galactosidase (melibiase), permitindo a utilização do dissacarídeo melibiose (glicose-galactose) (RUSSEL, 1994).

As células de *Saccharomyces* são esféricas, subglobosas, ovoide, elipsoide ou cilíndrica a alongada, se dispõem sozinha ou em pares e as vezes em cadeias curtas, podem ser agrupadas em três classes conforme o tamanho. O tipo larger, mede entre 4,5 e 10,5 μm (micrometros) (BATISTA, 2014).

Como são seres anaeróbios facultativos, podem sobreviver em ambientes com ou sem oxigênio, está sendo uma característica importante para seu uso nos processos fermentativos que requer quantidades baixas do gás, para que a levedura possa obter energia pela fermentação e liberar o etanol e o dióxido de carbono, que são os produtos de interesse nesta etapa (PALMER, 2006).

Segundo Venturini (2005, p. 198), “As características de sabor e aroma de qualquer cerveja são determinadas, de forma preponderante, pelo tipo de levedura

utilizada”, uma vez que elas são responsáveis por produzir durante a fermentação além do etanol, uma quantidade entre 600 a 800 componentes (aldeídos, ésteres, álcoois, ácidos) de sabores e aromas ativos (LEWIS; YOUNG, 2002), os tipos e quantidade de subprodutos dependem do processo metabólico de cultivo das leveduras, uma vez que fatores como temperatura, pH da fermentação, tipo e a proporção de adjunto, o modelo de fermentador e a concentração do mosto impactam na via metabólica das células afetando o sabor e aroma da bebida (MORADO, 2009).

Por ter uma grande importância para a qualidade final da cerveja é necessário selecionar e estudar a levedura que será empregada na fermentação. A seleção dessas leveduras é feita seguindo três critérios: o primeiro, sabor e aroma que elas vão conferir à cerveja; segundo, capacidade de fermentação, uma vez que para o processo ocorrer de forma adequada a massa de levedura precisa aumentar de 3 a 5 vezes em relação à massa inicial inoculada no fermentador (SCHIMIDELL *et al*, 2001a).

3.5.1 Fermentação Alcólica na Cerveja

No processo de fermentação as leveduras transformam o açúcar presente no mosto em álcool e dióxido de carbônico. Existem duas vias para que isto ocorra, a reação aeróbia e anaeróbia.

A reação aeróbia, descrita abaixo, por produzir mais energia (ATP) que quando o oxigênio não está presente, é muito importante no início da fermentação, sendo responsável por promover o crescimento de novas células de levedura e revigorar as já existentes.



A via anaeróbia, apresentada abaixo, está incumbida de conferir para a cerveja seu grau alcólico e sua carbonatação, por ter como produtos da reação o dióxido de carbônico e o álcool etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (SCHIMIDELL *et al*, 2001a).



No início da fermentação a levedura consome a sacarose e a hidrólise resultante causa um aumento momentâneo na concentração de frutose. Frutose e glicose são utilizadas praticamente simultaneamente, não sendo mais detectadas no após 24 horas. Com o fim da glicose a maltose, o açúcar em maior quantidade no mosto, passa a ser ingerida. A maltotriose é o último sacarídeo usado pelas leveduras. Polissacarídeos superiores, como as dextrinas, não são consumidos, mas contribuem para o sabor e corpo da cerveja (BATISTA, 2014)

3.5.2 Metabólitos Secundários

Durante a fermentação os principais produtos são álcool e do dióxido de carbono, mas além deles, as leveduras liberam em pequenas quantidades uma série de componentes secundários que vão contribuir para o sabor e aroma da cerveja, esses componentes são: ésteres, ácidos e álcoois.

Todas essas substancias geradas durante a fermentação devem ser mantidas dentro de limite (limite de detecção sensorial, LD) para os padrões de consumo e também para não afetarem o sabor e aroma da cerveja gerando “off-flavors” (sabores e aromas indesejados para a cerveja) (PIRES *et al.*, 2014)

3.6 ETAPAS DA PRODUÇÃO DE CERVEJA

A fabricação da cerveja está dividida em operações essenciais: moagem do malte; mostura; filtração; fervura; fermentação; maturação e envaze. Nessas etapas estão envolvidas diversas reações químicas e bioquímicas e as etapas do processo pode ser dividida em dois grupos ditos de parte quente (da mostura até a fervura) e parte fria (fermentação e maturação) (TOZETTO, 2017).

A seguir estão descritas cada etapa do processo de produção da cerveja.

3.6.1 Moagem

A moagem do malte influencia a velocidade das transformações físico-químicas, o rendimento, a clarificação e a qualidade do produto final. O malte é processado para que ocorra a quebra da casca no sentido longitudinal expondo o endosperma, porção interna do grão; desintegração total do endosperma, para melhorar a eficiência das enzimas (SILVA, 2005).

3.6.2 Mostura

Na mostura ocorre mistura do malte moído com a água cervejeira na tina de mostura, é realizado um controle de tempo, rampas de temperaturas e pH do processo com a finalidade de ativar as enzimas presentes no malte (TOZETTO, 2017). As amilases transformam o amido em açúcares fermentescíveis (maltose principalmente) e dextrina não fermentável; as quebram as proteínas formando aminoácidos e peptídeos (FIGUEIRÊDO, 2017).

O uso de altas temperaturas na mostura (67 a 72°C) produz açúcares com cadeias carbônicas maiores, mais complexos, chamados "dextrinas", que não são fermentadas pelas leveduras, gerando um produto final mais doces e com uma sensação de corpo maior, já em temperaturas mais baixas na mistura (62 a 66°C) as enzimas quebram o amido em açúcares fermentáveis, como a maltose, que são produzindo com um corpo menor e menos doces. Esta etapa em pequenas cervejarias é geralmente de 90 minutos (ERTHAL, 2006). Na mosturação são extraídos 65% dos sólidos totais do malte (CARVALHO, 2007).

3.6.3 Filtragem/Lavagem

Durante a filtração o mosto é separado do bagaço de malte ou torta, que é utilizado como meio filtrante; este mosto clarificado é chamado de primário. O mosto primário é extraído e a torta é lavada com água quente a fim de se extrair o máximo

possível de açúcares residuais; este mosto é denominado secundário, após os dois mostos são misturados e levados para etapa seguinte (BRUNELLI, 2012).

3.6.4 Fervura

A fervura pode durar de 60 a 90 minutos, tem o objetivo de esterilizar o mosto e desnaturar as proteínas e enzimas e garantir a qualidade sensorial e coloidal (REITENBACH, 2010).

O lúpulo é adicionado para estabilizar o mosto e conferir amargor e aroma à cerveja. Para ter uma cerveja mais amarga o lúpulo entra no início da fervura para uma maior isomerização dos α -ácidos, já lúpulo aromático é adicionado no final da fervura, pois os óleos essenciais, responsáveis por conferir os aromas, são voláteis e evaporam em altas temperaturas. Ao término da fervura o trub (o lúpulo utilizado, proteínas coaguladas e sedimentos, como casca ou outras partes do malte) é eliminado por decantação. (FIGUEIRÊDO, 2017)

3.6.5 Resfriamento

O resfriamento do mosto precisa ser feito de forma rápida para não ocorrer oxidação, contaminação por microrganismos e formação de DMS (Dimetil Sulfeto) (SILVA *et al.*, 2009). A temperatura a ser atingida depender da cerveja que será produzida: para cerveja Lager, 7 a 15 °C e para Ale, 18 a 22 °C (SILVA, 2005).

3.6.6 Fermentação

Durante o processo fermentativo as leveduras consomem os açúcares fermentescíveis presentes no mosto produzindo produção de etanol e dióxido carbônico.

Existem dois tipos de fermentação: a alta para cervejas Ale, e a fermentação de baixa para cervejas Lager. As Ales são fermentadas em temperatura entre 18 e 22 °C, com duração de 3 a 5 dias, já para Lagers a temperatura varia entre 7 e 15 °C com duração de 7 a 10 dias (SILVA, 2005).

3.6.7 Maturação

O tempo de maturação depende do tipo de cerveja produzida, nesta etapa os *off-flavors* (sabores indesejáveis) da cerveja são eliminados, as leveduras ainda ativas reduzem ou eliminam componentes, como: Diacetil (2,3-Butanodiona), o DMS (Dimetil Sulfeto), e alguns compostos de enxofre, que são responsáveis por gerar um paladar desagradável (FIGUEIRÊDO, 2017).

3.6.8 Envase

Após a maturação a cerveja é transferida para garrafas de vidros que são tampadas com a utilização de um arrolhador. Antes da cerveja coloca-se na garrafa o *priming* (solução de água e extrato de malte em pó) que é responsável por fornecer o açúcar para a levedura ainda presente na cerveja realizar uma segunda fermentação que irá gerar o gás carbônico presente no produto final (SANTOS; RIBEIRO, 2005).

4 METODOLOGIA

A metodologia deste trabalho foi dividida em três etapas, sendo a primeira a produção da cerveja pelo processo All-Grain, utilizando na etapa de fermentação três tipos de leveduras, uma comercial e outras duas novas cepas de *Saccharomyces Cerevisiae*. As novas leveduras foram cedidas através de uma parceria com o Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Leveduras da UFMG. A segunda parte correspondeu às análises do mosto cervejeiro, do mosto durante o processo de fermentação e do produto final, para determinação da eficiência da levedura na conversão de açúcar em álcool e a qualidade da cerveja. Essas análises foram feitas seguindo a metodologia da *American Society of Brewing Chemists* (ASBC, 1996). Por último os testes sensoriais para verificar se a cerveja produzida se enquadra no estilo proposto e se agrada ao consumidor.

4.1 REPIQUE DAS LEVEDURAS

O repique das leveduras é um processo utilizado para multiplicar e manter as células de leveduras saudáveis. Uma vez que as leveduras doadas para este trabalho foram recebidas em placas de Petri em um meio de cultura que as mantinham inativas foi necessário o uso desta técnica.

As leveduras contidas nas placas foram lavadas com água destilada previamente esterilizada em autoclave. Após isto foram transferidas para os tubos Falcon contendo o meio de cultura. O meio de cultura e o procedimento estão descritos a seguir:

Meio de Cultura Ágar-DME:

- 4g de DME (extrato de malte seco) marca Dry Brew;
- 2g de ágar marca Synth;
- 0,02g de extrato de levedura marca Synth;

Procedimento:

- Colocar 5ml do meio de cultura no tubo Falcon e autoclavar por 15 minutos a 125°C.
- Deixar o tubo esfriar e o meio de cultura se solidificar.
- Com uma alça de inoculação, raspar as leveduras do meio original sob transferência asséptica.
- Deixar o tudo de 2 a 3 dias em temperatura ambiente para acontecer a propagação das leveduras, após este período guardar os tubos em geladeira.

4.2 PREPARAÇÃO DO INÓCULO DE LEVEDURA

Após o repique as leveduras foram utilizadas para preparar o inóculo que foi para a fermentação. O conteúdo do tubo Falcon obtido com o repique foi raspado com auxílio de uma alça de inoculação e transferido para um outro tubo Falcon de 10 mL contendo 10 ml de solução 8 Platos. Após 24 horas este conteúdo foi transferido para um erlenmeyer de 250mL com 100mL de solução 8 Platos. Passado 1 dia o conteúdo do erlenmeyer foi repassado para outro de volume de 1 litro contendo 500 mL de solução 12 Platos. Mais 24 horas adicionou o líquido a um erlenmeyer de 2 litros contendo 1 litro da solução 12 Platos. Após 1 dia a solução de inóculo estava pronta e foi transferida para recipientes de 250mL. Em todas as etapas foram retiradas amostras para realização da contagem de células de levedura.

Soluções utilizadas:

8 Platos = 100 ml de água, 9g de DME e 20 mg de extrato de levedura;

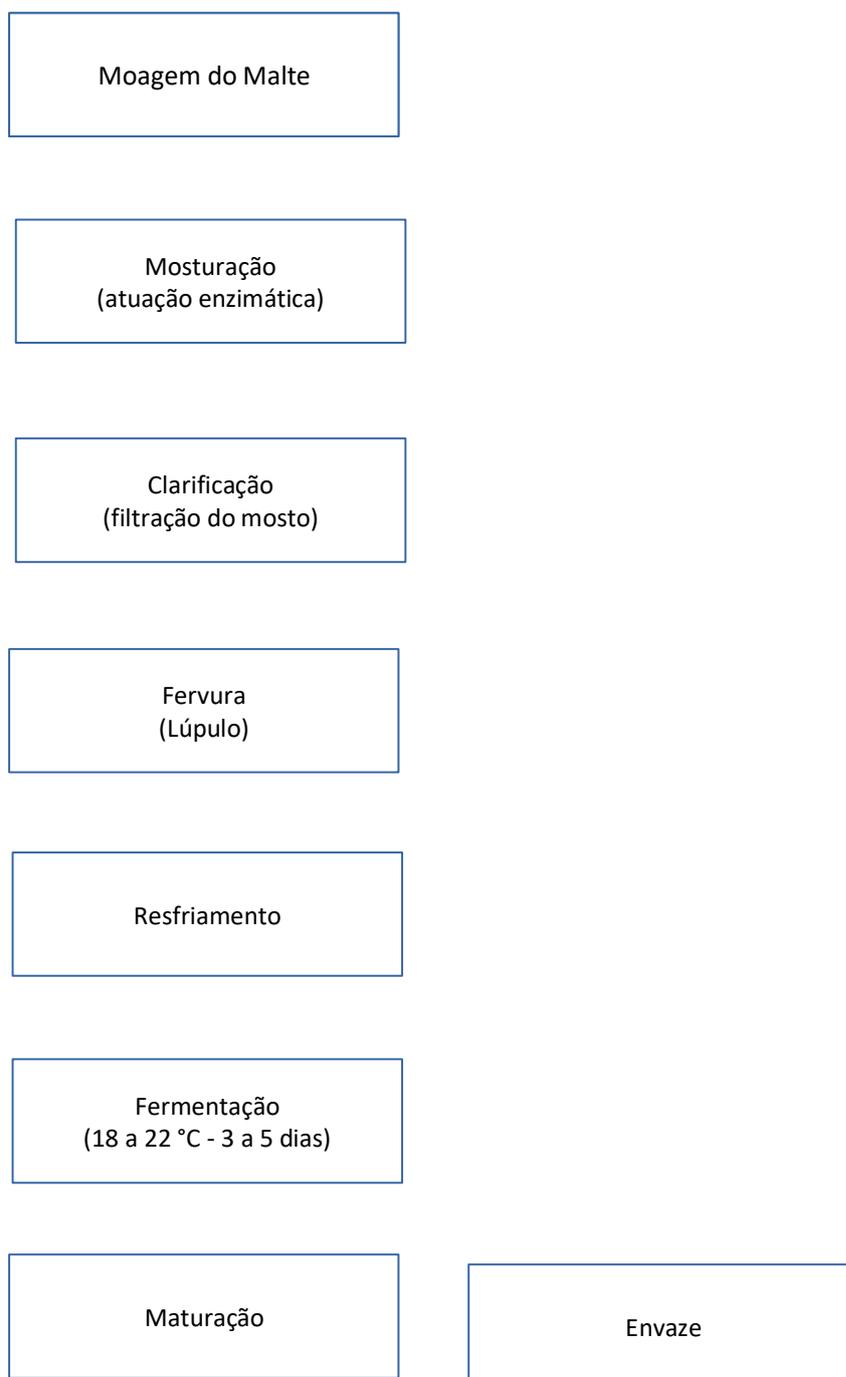
12 Platos = 1L de água, 140g de DME e 200 mg de extrato de levedura.

4.3 MÉTODO ALL-GRAIN

No All-Grain são utilizados apenas maltes em grãos, e ele está dividido nas seguintes etapas: moagem, mostura, filtração/lavagem, fervura, resfriamento, fermentação, maturação e envase, as etapas do processo são apresentadas no fluxograma a seguir.

Como a produção foi realizada em escala “caseira” o método utilizado foi retirado do livro *How to Brew* (Palmer, 2006).

Figura 1 – Fluxograma do Método *All-Grain*



Fonte: Próprio Autor (2019).

Foram produzidos dois estilos Stout e Kolsh as receitas das cervejas produzidas e os parâmetros de brasagem estão nos Anexos 1 e 2, todas as receitas foram preparadas para resultarem 30 litros de cerveja.

Para a fermentação foram utilizadas as novas cepas UFMG 228 e UFMG 030, e as cepas comerciais da marca Fermentis S-05 para a Stout e K-97 para Kolsh.

Toda a produção foi realizada utilizando os equipamentos de teste de novas receitas da Cervejaria GeneralBeer, localizada na cidade de Andradas, Minas Gerais.

A mostura foi realizada em uma panela cervejeira automática Mec Beir, modelo MecHobby, com capacidade para produção de 50 litros de cerveja.

4.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E VIABILIDADE DAS CÉLULAS

A determinação da concentração (cel/mL), e viabilidade das células de levedura realizadas em câmara de Neubauer seguindo método de coloração com azul de metileno (ASBC, 1996).

4.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO MOSTO E DA CONCENTRAÇÃO DE ETANOL

A concentração do mosto e a concentração de etanol durante e após a fermentação, foram realizadas em analisador de cerveja (Beer Analyser 2, ANTON-PAAR® / Áustria) sendo para a concentração do mosto o resultado expresso em °Plato e para a concentração de etanol expresso em percentagem em volume (% v/v).

4.6 ANÁLISES SENSORIAIS

As análises sensoriais das cervejas foram realizadas na casa dos voluntários, de acordo com testes de aceitabilidade descritos por Meilgaard; Civille;

Carr (1999). Foram utilizados 30 julgadores não treinados e concordantes ao termo de livre consentimento (Apêndice D). Foram avaliados os atributos de aroma, sabor, formação de espuma, aparência e impressão global através da escala hedônica estruturada de nove pontos, assim como, foi questionada a intenção de compra do produto analisado através da escala estruturada de cinco pontos (certamente não compraria a certamente compraria) (Apêndice D).

Os riscos aos voluntários da análise sensorial foram mínimos, pois as preparações foram elaboradas com ingredientes seguros, em quantidades permitidas pela legislação e seguindo as boas práticas de manipulação. Não houve risco financeiro ao participar deste estudo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como forma de alcançar os resultados propostos nos objetivos deste trabalho, inicialmente foi avaliado o crescimento da levedura durante a etapa de preparação do inóculo, bem como o acompanhamento de todo o processo de produção da cerveja. Na sequência, conforme descrito no item *Metodologia*, foram avaliados o crescimento celular da levedura durante a fermentação, concentração do mosto, o grau alcóolico e também os resultados relacionados a análise sensorial da cerveja produzida, discutindo o conteúdo de forma comparativa ao longo do trabalho.

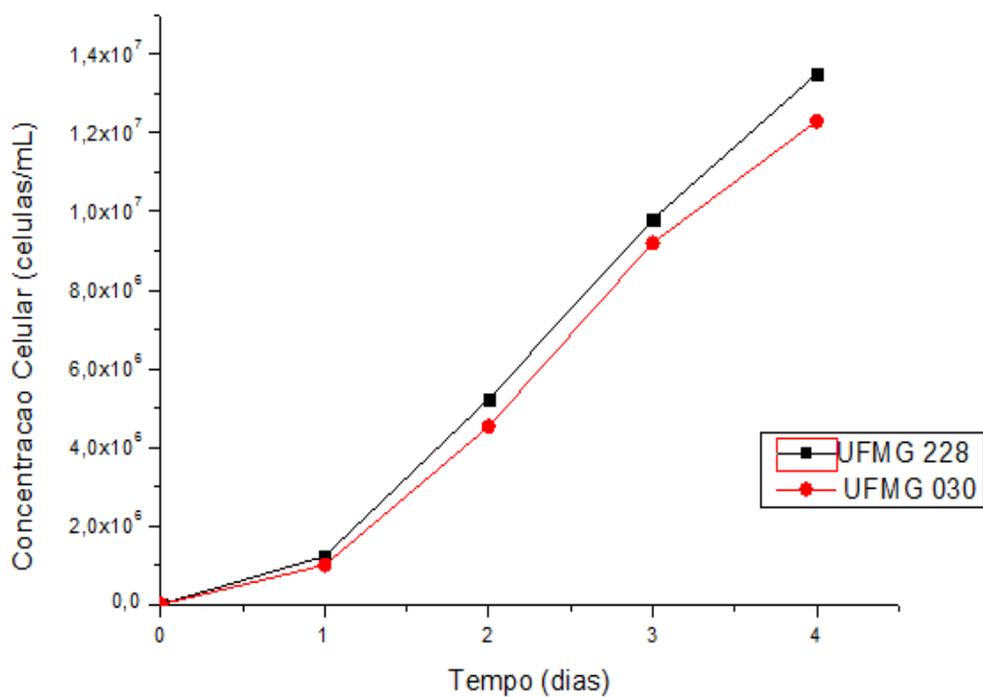
5.1 MONITORAMENTO DA CONCENTRAÇÃO CELULAR DAS LEVEDURAS

Para se comprovar a viabilidade do uso das duas novas cepas de levedura, UFMG 228 e UFMG 030, foi estudou-se a concentração de células viáveis em duas etapas do processo de produção da cerveja, a preparação do inóculo e o período de fermentação do mosto. Durante a fermentação as novas cepas tiveram seu comportamento comparado ao de uma levedura já comercializada.

5.1.1 Preparação do Inóculo

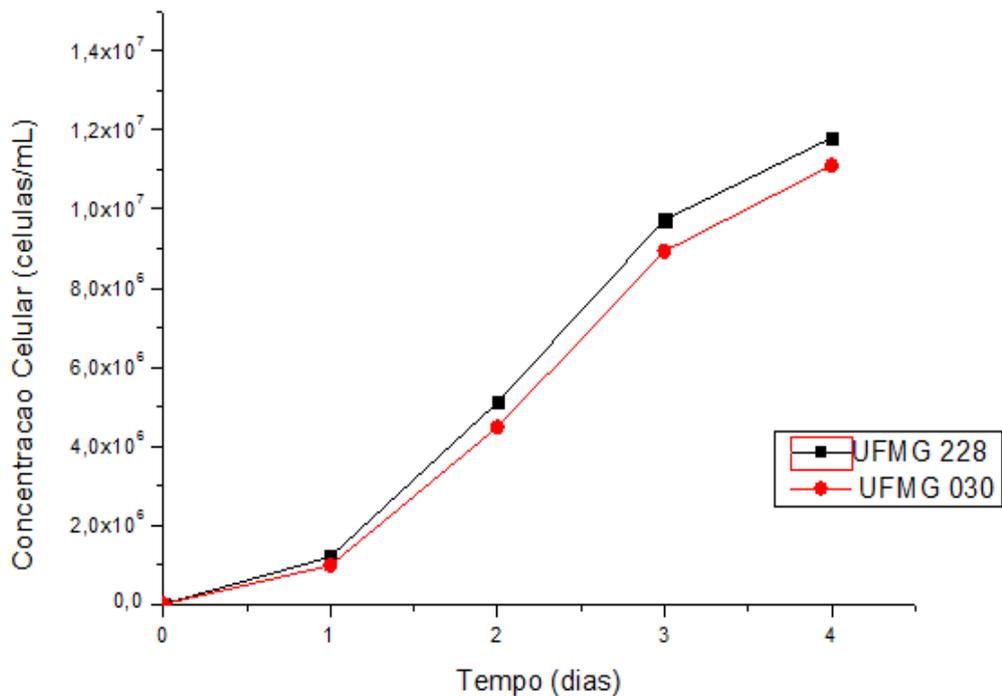
Após o repique ser feito como descrito no item 4.2, o inóculo de leveduras foi preparado segundo o item 4.3 e a concentração de células viáveis monitorada dia após dia, Os Gráficos 1 e 2 apresentam o aumento do número de células no decorrer do tempo do inóculo preparado para a produção da cerveja tipo Stout e do tipo Kolsh.

Gráfico 1 – Crescimento celular do inóculo para a cerveja tipo Stout



Fonte: Próprio autor (2019).

Gráfico 2 – Crescimento celular do inóculo para a cerveja tipo Kolsh



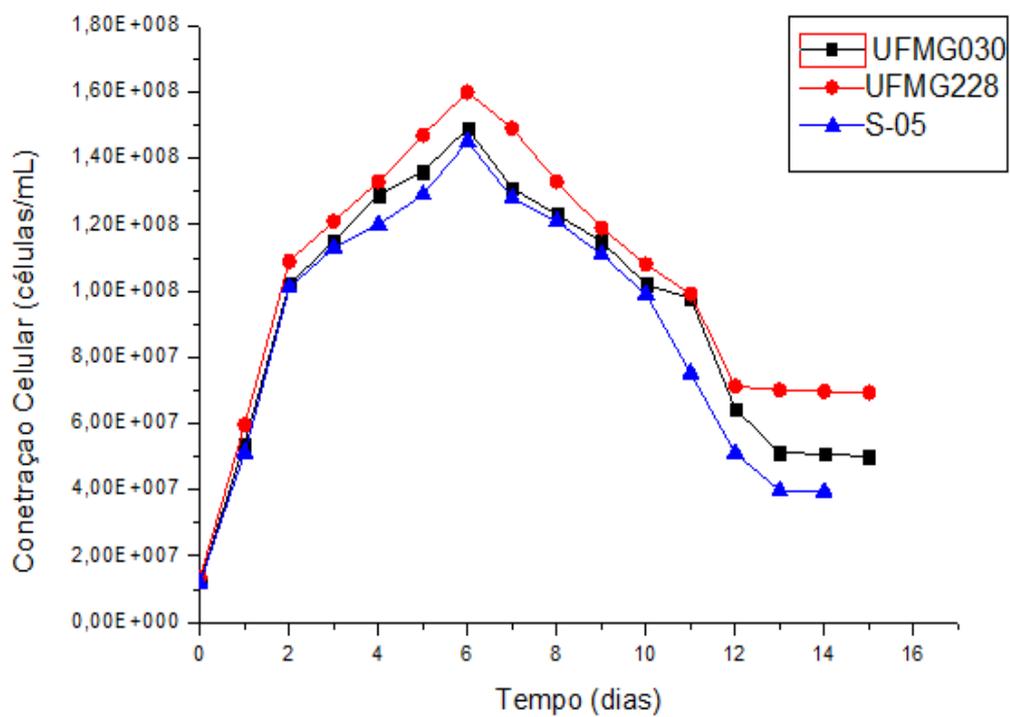
Fonte: Próprio autor (2019).

Para uma boa fermentação o ideal é que o inóculo contenha uma quantidade de pelo menos 750 milhões de células de levedura para cerveja do tipo Ale e 1 bilhão para cervejas do tipo Lager, quantidades muito baixas de células podem prejudicar a fermentação e atrasar o processo, gerando compostos indesejáveis para o sabor e aroma da cerveja (White 2010). Com o intuito de garantir uma boa fermentação, durante o trabalho a concentração monitorada durante os quatro dias de preparação do inóculo de cada levedura para os dois tipos de cerveja. Ao final desse período, pode ser visualizado nos gráficos 1 e 2, a quantidade de células viáveis está adequada com a literatura, sendo assim possível inocular as leveduras no mosto para que ocorresse a fermentação.

5.1.2 Crescimento celular durante a Fermentação

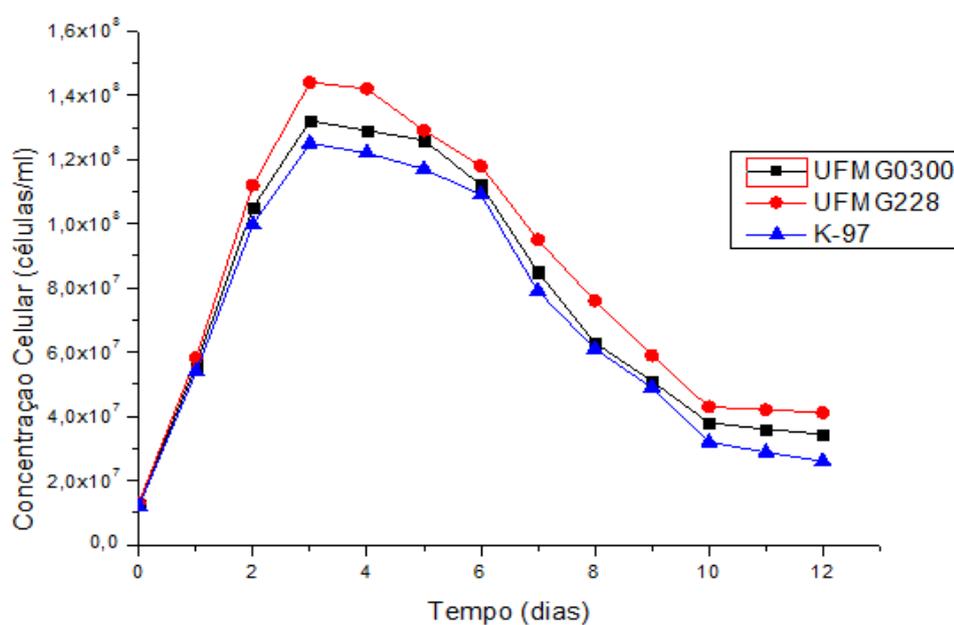
Durante a etapa de fermentação o crescimento celular da levedura passa por sete fases: (i) lag – fase onde a cepa está se adaptando ao meio em que foi inoculada, e suas células estão produzindo as enzimas necessárias para metabolizar os componentes do mosto; (ii) aceleração – fase em que começa a ocorrer a reprodução dos microrganismos; (iii) exponencial – fase de crescimento acelerado do número de leveduras com intensa atividade metabólica; (iv) linear – fase onde o crescimento celular passa a ser constante; (v) desaceleração – fase em que ocorre a diminuição dos nutrientes e da presença de metabolitos inibidores e, assim, o crescimento celular passa a ser mais lento; (vi) estacionária – fase em que se alcança o número máximo de células e existe um balanço entre a velocidade de crescimento e a velocidade de morte celular; (vii) declínio – fase onde a velocidade de morte celular é maior que a velocidade de geração de novas células (SCHIMIDELL *et.al* 2001a). Nos gráficos 3 e 4 podemos comparar o comportamento das novas leveduras e das leveduras comerciais.

Gráfico 3 – Crescimento celular durante a fermentação da cerveja tipo Stout



Fonte: Próprio autor (2019).

Gráfico 4 – Crescimento celular durante a fermentação da cerveja tipo Kolsh



Fonte: Próprio autor (2019).

Como a retirada de amostras dos fermentadores foi diária, ao construir os gráficos de crescimento celular se percebe que não foi possível observar com clareza todas as sete fases descritas na literatura. Como tais fase podem acontecer no período de horas e devido a problema operacionais de acesso ao equipamento, não foi possível retirar as amostras em prazos menores, tal fato impediu a concreta detecção das mesmas. Porém ao visualizar os gráficos 3 e 4 para os dois estilos de cervejas, é possível distinguir algumas fases. Entre o dia 0 e o dia 2 a fase exponencial se torna evidente, sendo observado um aumento acelerado na quantidade de células. A fase estacionária, por sua vez, pode ser percebida pelo ponto de maior concentração celular, ocorrendo para a cerveja Stout no sexto dia de fermentação e para cerveja Kolsh no terceiro dia de fermentação. Após esses períodos se percebe nos dois gráficos o início da fase de declínio.

Comparando os dois gráficos é possível perceber que na cerveja tipo Stout a concentração de levedura foi maior do que na cerveja tipo Kolsh, apesar dos inóculos terem uma quantidade semelhante de células. Isso acontece devido a Stout apresentar uma concentração maior de açúcares fermentáveis no seu mosto.

Comparando as três leveduras nos dois processos de fermentação se pode-se afirmar que a UFMG 228 teve um crescimento celular maior que a UFMG 030, que por sua vez apresentou valores acima da levedura comercial S-05 (Stout) e K-97 (Kolsh), sendo esse um bom indicativo para a sua utilização comercial.

5.2 ANÁLISE DO MOSTO

O mosto para a produção da cerveja foi preparado de acordo com o item 4.3.2, e analisado durante a fermentação seguindo os passos do item 4.5. Esse estudo foi realizado para ajudar a entender o comportamento da levedura no processo fermentativo e observar o consumo do açúcar presente no mosto e a produção de etanol.

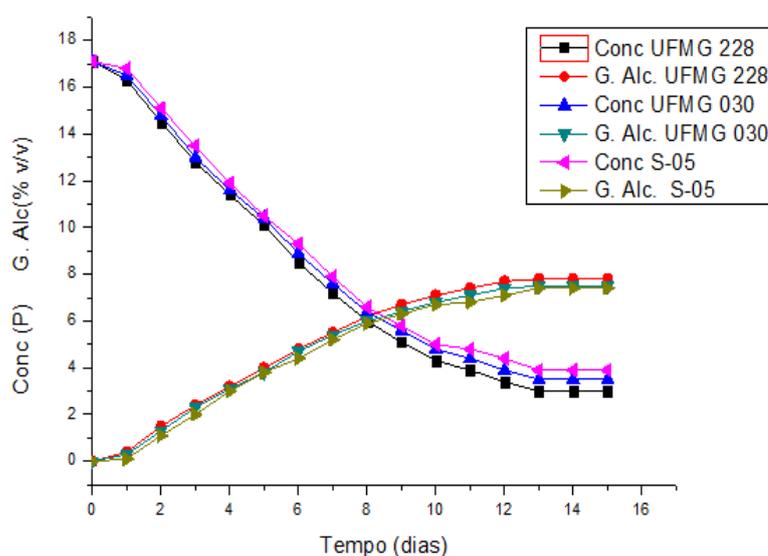
5.2.1 Concentração do Mosto e Graduação Alcólica

Durante a fermentação as leveduras utilizam os diferentes tipos de açúcar presente no mosto para a sua nutrição e liberam diversos metabólitos, sendo os mais importantes o etanol e o dióxido de carbono. A evolução deste processo foi monitorada com a coleta diária de amostras que foram posteriormente analisadas.

Os resultados estão apresentados nos gráficos 8 e 9, é possível observar que para os dois estilos propostos a cepa UFMG 228 obteve um melhor desempenho, seguida pela UFMG 030, S-05 (Stout) e K-97 (Kolsh). Isso corrobora o resultado encontrado nos dados de crescimento celular apresentados, visto que uma levedura que se reproduz melhor vai consumir mais substrato (açúcar do mosto) e gerar mais álcool.

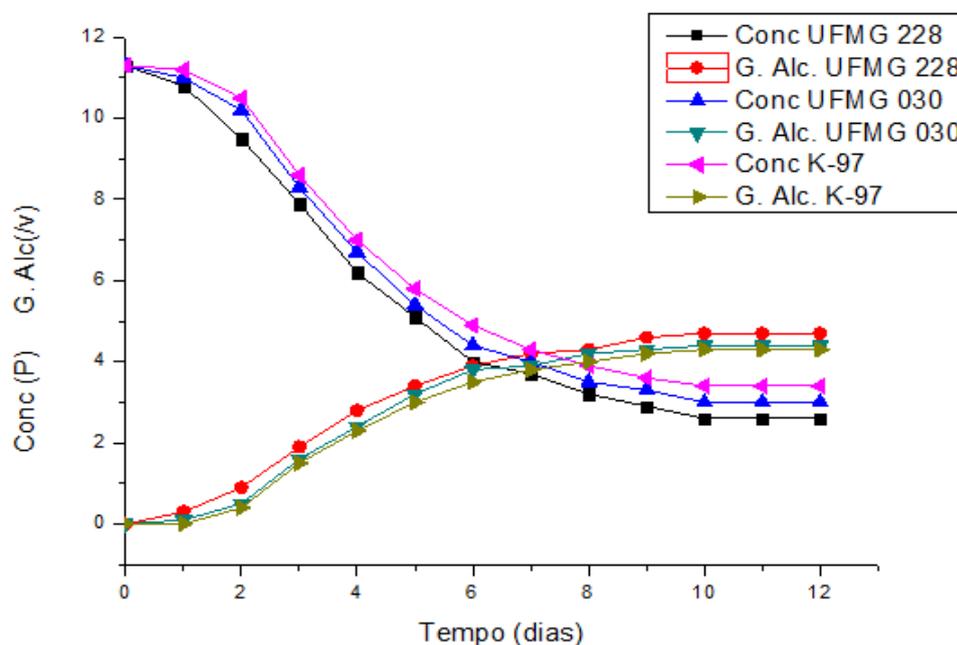
Os gráficos de crescimento celular também estão de acordo com dois eventos que ocorrem durante o processo: a diminuição da concentração do mosto e o aumento da concentração de etanol. Esses dois fatores dificultam a atividade celular das leveduras, uma vez que a disponibilidade de alimento (açúcar) diminui e a quantidade de álcool, que um inibidor da atividade celular, aumenta, fazendo com que nos últimos dias da fermentação seus valores fiquem constantes.

Gráfico 5 – Concentração do Mosto (P) e Graduação Alcólica para a Stout (% v/v)



Fonte: Próprio autor (2019).

Gráfico 6 – Concentração do Mosto (P) e Graduação Alcólica para a Kolsh (% v/v)



Fonte: Próprio autor (2019).

5.3 ANÁLISE SENSORIAL

Para a análise sensorial o projeto foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade Federal sendo aprovado e recebendo o número CAAE 17455819.5.0000.5142. Durante o período de análise sensorial 30 voluntários não treinados foram selecionados para participar dos testes, e as amostras codificadas de acordo com a levedura usada durante a fermentação. A codificação feita está apresentada na tabela abaixo. Cada voluntário recebeu um copo de cada amostra para julgar os itens de perfil sensorial (Aroma, Sabor, Espuma, Aparência e Impressão Global) também escolheram o estio e amostra que mais agradou seu paladar.

Tabela 4 - Codificação das Amostras para análise sensorial

K1	UFMG 228
K2	UFMG 030
K3	K-97
S1	UFMG 228
S2	UFMG 030
S3	K-97

Fonte: Próprio autor (2019).

5.3.1 Perfil Sensorial

A levedura influencia muito no sabor e aroma finais da cerveja por liberar diversos subprodutos durante a fermentação (LEWIS; YOUNG 2002). Assim já era esperado avaliações diferentes para cada cepa, principalmente nos quesitos sabor e aroma.

A Tabela 5 apresenta os valores médios atribuídos pelos voluntários durante o Teste de Perfil Sensorial para cada amostra de Stout avaliada. Conforme os resultados obtidos, e seguindo a escala de definição utilizada na ficha de avaliação (Apêndice D), pode-se observar que todas as amostras obtiveram notas com valores médios consideráveis, estando entre 6,78 e 8,26 para todos os quesitos avaliados.

Tabela 5 - Valores Médios para o Teste de Perfil Sensorial da Cerveja Stout

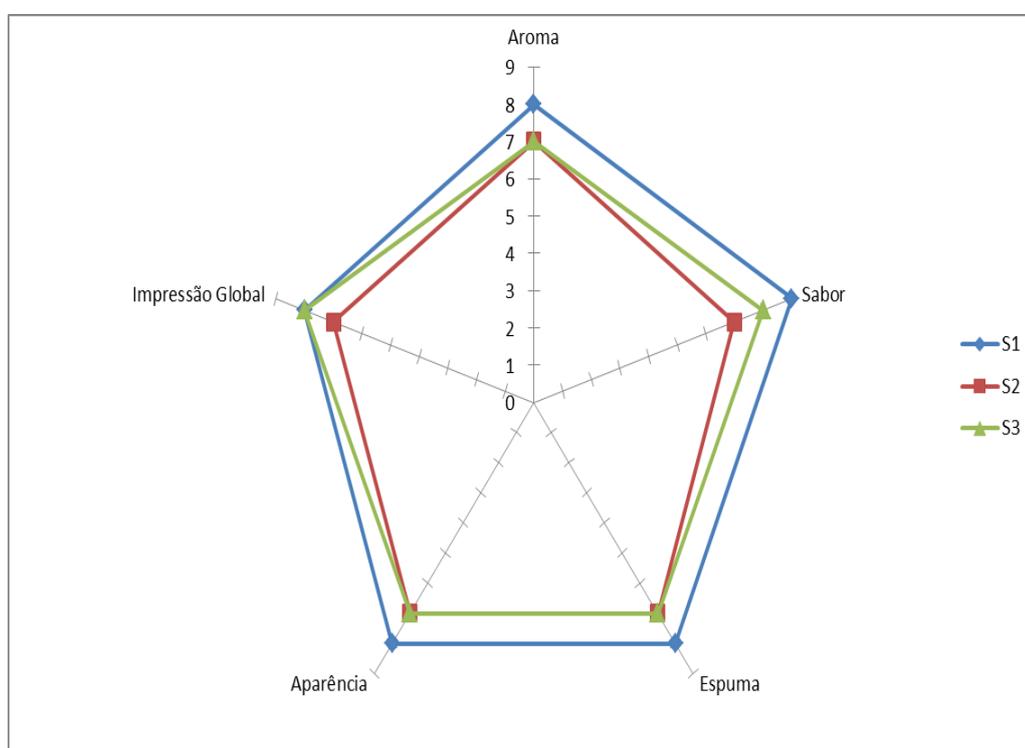
Amostra	Parâmetros	Valor Médio	Desvio Padrão
S1	Aroma	8,00	±1,05
	Sabor	8,70	± 0,47
	Espuma	8,10	± 0,84
	Aparência	7,97	± 0,72
	Impressão Global	8,20	± 0,61
S2	Aroma	7,18	±1,03
	Sabor	6,95	± 0,90
	Espuma	7,00	± 0,89
	Aparência	7,20	± 0,83
	Impressão Global	7,09	± 0,76
S3	Aroma	6,78	±0,99
	Sabor	8,04	± 1,38
	Espuma	7,13	± 1,26
	Aparência	7,20	± 1,45
	Impressão Global	8,26	± 1,55

Fonte: Próprio autor (2019).

Segundo o perfil sensorial de cada amostra de Stout apresentado no Gráfico 7, a levedura UFMG 228 reforçou seu melhor desempenho nos testes de fermentação

recebendo as maiores notas para sabor e aroma, mas um resultado intrigante a levedura S-05 ter notas maiores que a levedura UFMG 030. Esse resultado pode estar relacionado aos diferentes aldeídos, ésteres, álcoois e outros compostos que foram metabolizados pelas células durante a fermentação. A levedura S-05 pode ter gerado substâncias que colaboram para um perfil mais adequado para o estilo, por já ser uma levedura selecionada para esse tipo de cerveja, com isso pode ter agradado mais o paladar dos voluntários tendo assim uma melhor avaliação e empatando em Avaliação Global com a levedura UFMG 228.

Gráfico 7- Perfil Sensorial da cerveja Stout



Fonte: Próprio autor (2019).

No entanto as respostas individuais dos voluntários normalmente apresentam diferenças que devem ser levadas em consideração, quanto ao gostar ou não gostar de um parâmetro avaliado, conforme verificado pelo desvio padrão apresentado entre os valores atribuídos (Tabela 6). Por este motivo, para avaliar melhor as opiniões foram avaliadas estatisticamente por análise de variância univariada (ANOVA), para este estudo foi escolhido o item Impressão Global, por incorporar todos os outros fatores avaliados (aroma, sabor, aparência e espuma) podendo representar a cerveja produzida, o resultado está apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 - Anova aplicada aos valores de Impressão Global para a Cerveja Stout

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	22,42222	2	11,21111	9,990099	0,000124	3,101296*
Dentro dos grupos	97,63333	87	1,122222			
Total	120,0556	89				

*não significativo a 5% de significância (F calculado < F tabelado); F tab. = 3,94

Fonte: Próprio autor (2019).

Após análise estatística realizada em cada amostra do teste Perfil Sensorial, com os valores obtidos entre as amostras muito próximos entre si, foi verificado não haver diferença significativa ($p \geq 0,05$) quanto a Impressão Global entre as Stouts correspondentes às amostras S1, S2 e S3.

Para as amostras da cerveja Kolsh repetiu-se o processo realizado para a cerveja Stout sendo também calculados os Valores Médios e o Desvio Padrão de cada atributo avaliado conforme apresentado na Tabela 7.

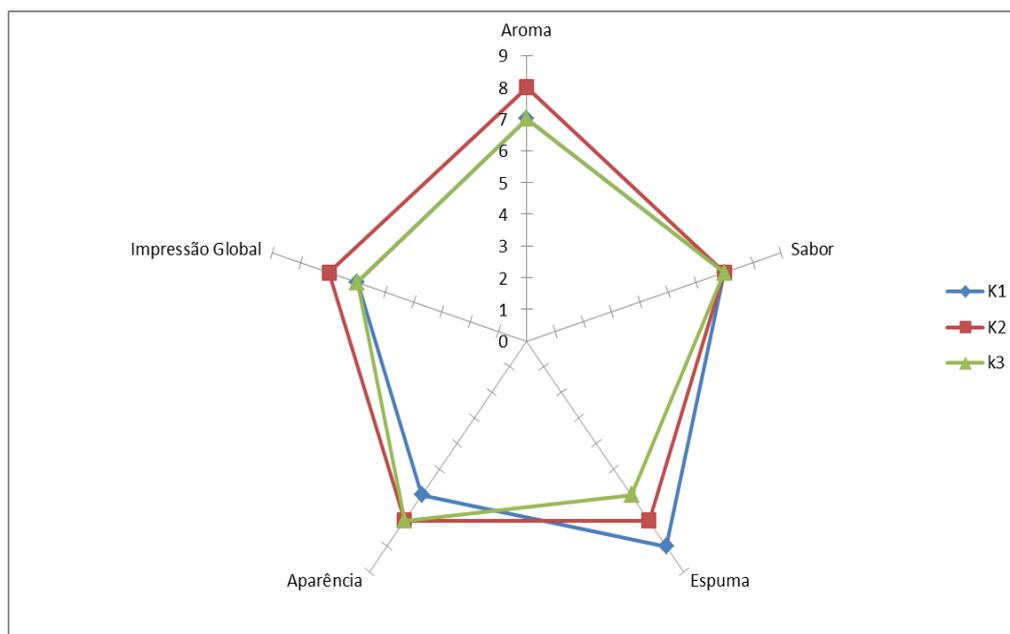
Tabela 7 - Valores Médios para o Teste de Perfil Sensorial da Cerveja Kolsh

Amostra	Parâmetros	Valor Médio	Desvio Padrão
K1	Aroma	7,89	±1,35
	Sabor	7,22	± 1,12
	Espuma	8,05	± 0,73
	Aparência	7,13	± 0,99
	Impressão Global	6,06	± 0,53
K2	Aroma	8,31	±0,86
	Sabor	7,02	± 1,25
	Espuma	7,88	± 1,36
	Aparência	6,86	± 0,56
	Impressão Global	7,00	± 1,45
K3	Aroma	7,37	± 1,10
	Sabor	6,89	± 0,67
	Espuma	5,96	± 0,86
	Aparência	6,93	± 1,67
	Impressão Global	6,37	± 1,34

Fonte: Próprio autor (2019).

Observando no Gráfico 8 e comparando as amostras de cerveja do estilo Kolsh o resultado foi um pouco diferente do apresentado para a cerveja Stout. A levedura UFMG 030 recebeu a maior nota na avaliação global, bem como no quesito aroma. Como explicado anteriormente, tal resultado pode ser causado pela diferença de metabolitos liberados por cada levedura durante a fermentação.

Gráfico 8 - Perfil Sensorial da cerveja kolsh



Fonte: Próprio autor (2019).

Como realizado na Stout para a Kolsh também foi feita a Anova (Tabela 8), apresento um resultado igual não havendo diferença significativa ($p \geq 0,05$) quanto a Impressão Global para as amostras K1, K2 e K3.

Tabela 8 - Anova aplicada aos valores de Impressão Global para a Cerveja Kolsh

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	13,62222	2	6,811111	3,171632	0,046825	3,101296*
Dentro dos grupos	186,8333	87	2,14751			
Total	200,4556	89				

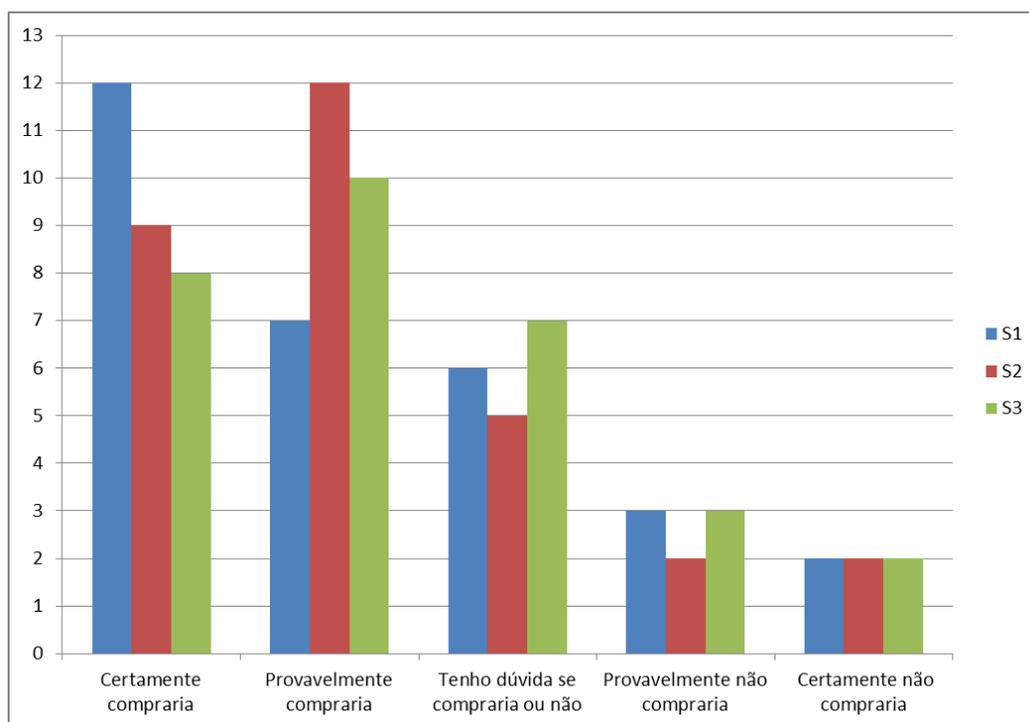
*não significativo a 5% de significância (F calculado < F tabelado); F tab. = 3,94
Fonte: Próprio autor (2019).

5.3.2 Aceitação de mercado

Após a degustação os voluntários foram questionados se comprariam em supermercados, bares ou outros lugares as amostras que eles consumiram, esta pergunta foi feita para atestar se a cerveja realmente agradou ou não e ajuda a ver o potencial de aplicação da levedura para a produção em escala comercial.

No gráfico para a cerveja do estilo Stout, a S1 (UFMG 228) foi a preferida dos possíveis consumidores corroborando com a apresentado anteriormente sobre a influência da levedura no produto final, as outras leveduras também alcançam uma boa aceitação, apenas duas pessoas certamente não comprariam. Isso demonstra o potencial da levedura nacional para a produção de cervejas artesanais.

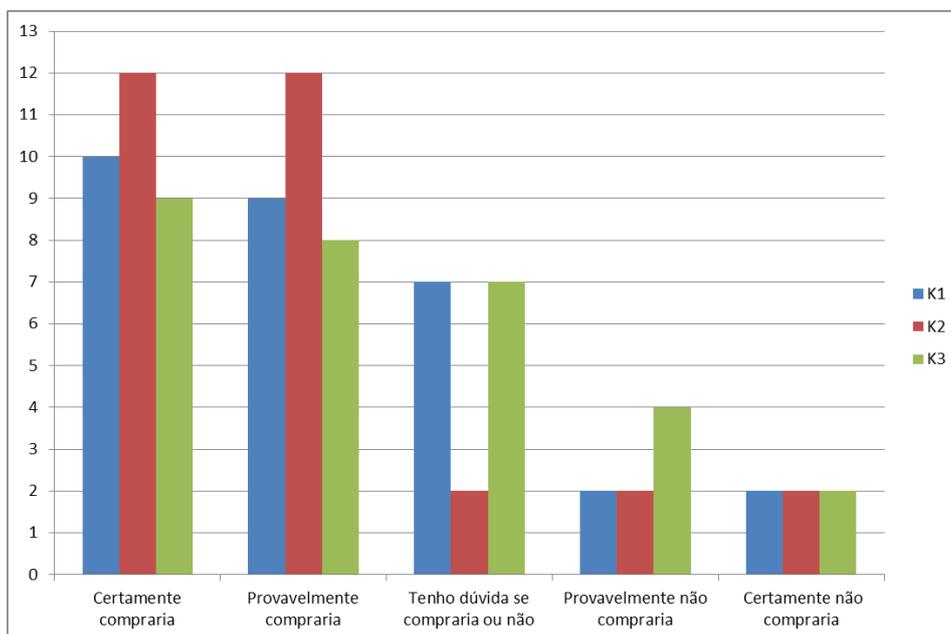
Gráfico 9 - Análise de mercado da cerveja Stout



Fonte: Próprio autor (2019)

Para cervejas do estilo Kolsh, a levedura K2 (UFMG 030) foi a que mais agradou no teste de perfil sensorial. A levedura obteve mais resultados positivos para compra e, assim como no estilo Stout, apenas dois voluntários não comprariam as cervejas produzidas com essas leveduras.

Gráfico 11 - Análise de mercado da cerveja Kolsh



Fonte: Próprio autor (2019).

Os resultados obtidos até o momento demonstram o potencial das leveduras nacionais, desenvolvidas na UFMG, tanto na questão da cinética de fermentação, quanto na qualidade e aceitação da cerveja produzida pelas mesmas.

6 CONCLUSÕES

As análises dos resultados obtidos neste trabalho conduziram às seguintes conclusões:

- A metodologia de repique se mostrou eficiente, uma vez que as leveduras apresentaram bons resultados ao longo do trabalho.
- Durante a preparação do inóculo de levedura, uma das etapas mais importantes do processo uma vez que baixas taxas de crescimento de células influenciam o produto final, as novas cepas demonstram ser capazes de se multiplicar rápido e atingir quantidade de células adequadas para a fermentação.
- Na preparação dos inóculos para os dois estilos de cerveja a cepa UFMG 228 se mostrou levemente superior a UFMG 030, gerando uma quantidade um pouco maior de células viáveis.
- Durante a fermentação foi acompanhado o crescimento do número de células de leveduras e foi possível a distinção de três fases do crescimento celular: Exponencial, fase que ficou mais evidente nos gráficos, estacionária e Declínio. Um estudo em tempos menores que um dia possibilitaria a observação das outras fases e um melhor entendimento do comportamento das novas cepas.
- Para os dois estilos de cervejas produzidos a levedura UFMG 228 obteve melhores resultados durante a fermentação se comparada a cepa UFMG 030 e as comerciais S-05 e K-97, tendo esse bom desempenho. Tal levedura apresenta um bom potencial para se pensar em seu uso uma escala maior. A levedura UFMG 228 também obteve resultados interessantes e passíveis de uso comercial.
- Nos testes de consumo de açúcar presente no mosto (concentração do mosto) e geração de álcool (gral alcoólico) as duas novas cepas comprovaram seu potencial tendo um desempenho melhor do que as leveduras já encontradas no mercado.
- No perfil sensorial a UFMG 228 se mostrou mais agradável para a produção de cerveja do estilo Stout e a UFMG 030 para o estilo Kolsh, o que pode ter ocorrido devido a diferença de subprodutos liberados pelas leveduras durante a fermentação. Ambas tiveram melhor desempenho do que a K-97 e a S-05.

- O teste de aceitação de mercado confirmou os resultados do perfil sensorial tendo como cerveja preferida no estilo Stout a cerveja feita com a UFMG 228 e no estilo Kolsh a produzida com a UFMG 030.
- Com o intuito de testar as novas cepas de levedura e contribuir com o mercado de cerveja nacional que tem grande potencial para crescer mais encontra algumas dificuldades, principalmente na questão de matéria prima e leveduras, que na sua maioria são importadas, este trabalho cumpriu seus objetivos de produzir dois tipos de cerveja, realizar os teste para ver adequação das novas cepas ao processo cervejeiro, comprovando sua eficiência, e também mostrou uma boa aceitação das cervejas produzidas pelos voluntários nos testes sensoriais.

REFERÊNCIAS

- AGRÁRIA, **Conhecimentos Básicos para o Cálculo (correto) de Lupulagem**, 2016. Disponível em: <http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte_arquivo/ba68c03f90c79bc6c57a7e3492a5aab3.pdf> Acesso em: 24 jan2017.
- ALMEIDA, Ana Beatriz Coelho. **Efeitos biológicos do lúpulo: Resultados de ensaios clínicos em humanos**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso(Licenciatura em Ciências Médicas) - Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentos, Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2017.
- ASBC, AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS. **Methods of Analysis of American Society of Brewing Chemists**. ASBC. 8ª. ed. Saint Paul Minnesota. USA, 1996.
- BATISTA, Raquel Almeida. **Produção e avaliação sensorial de cerveja com pinhão (araucaria angustifolia)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Lorena, SP, 2014.
- 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. Disponível em: <<http://www.planalto.gov.br>>. Acesso em: 07 ago 2016.
- BRUNELLI, Luciana Trevisan. **Produção de cerveja com mel: características físico-químicas, energética e sensorial**. 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2012.
- CARVALHO, L. G. **Dossiê Técnico. Produção de cerveja**. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTc=>>. Acesso em: 07 nov 2017.
- CERVBRASIL. **Associação da Indústria Brasileira de Cerveja, Anuário 2016**. 2017. Disponível em : <http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/anuarios/CervBrasil-Anuario2016_WEB.pdf>. Acesso em: 08 ago2018.
- DIÁRIO CATARINENSE. **Santa Catarina ganha primeiro laboratório que fabrica fermento para cerveja**. 2015. Disponível em: <<http://dc.clicrbs.com.br/sc/estilo-de-vida/noticia/2015/12/santa-catarina-ganha-primeiro-laboratorio-que-fabrica-fermento-para-cerveja-4932032.html>> Acesso em: 08 ago 2016.
- DINSLAKEN, D. **Manual do cervejeiro caseiro**. 2016. Disponível em: <<http://concerveja.com.br/>>. Acesso em: 02 ago 2016.
- ERTHAL A. D. **Microcervejaria**. SEBRAE, 2006. Disponível em: <<http://www.sebraesc.com.br/ideais/default.asp?vcdtexto=2179&^>>. Acesso em: 10 nov 2017.

FIGUEIRÊDO, ANTÔNIO FÁBIO REIS. **Seleção de leveduras e produção de cerveja artesanal suplementada com selênio**. 2017. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA, 2017.

HENRIK B. **Água: Tratamento**. 2011. Disponível em: <<http://www.cervejahenrikboden.com.br/tratamento-agua/>>. Acesso em: 25 jan 2017.

CEVERI, O.J. **O setor de bebidas no Brasil**. Biblioteca Digital BNDS, 2012. Disponível em < <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/3462>>. Acesso em: 5 de agosto de 2016.

LEWIS, M. J.; YOUNG, T. W. **Brewing**. 2ª. ed. Nova Iorque: Publishers, Kluwer Academic/ Plenum, 2002.

Mapa, **Anuário da cerveja no brasil 2018: crescimento e inovação**, disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pasta-publicacoes-dipov/anuario-da-cerveja-no-brasil-2018>>. Acesso em: 01 jun 2019.

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A Produção de Cerveja no Brasil. 2011. **Revista Citino**, Mato Grosso, v. 1, n. 1, p.34-42, dez. 2011.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. 3ª ed. Florida: CRC Press, 1999.

MORADO, R. **Larousse da cerveja**. São Paulo: Alaude, 2009.

PALMER, J. **How to Brew**. Estados Unidos: Natl Book Network, 2006.

PIRES, Eduardo J. et al. "Yeast: the soul of beer's aroma—a review of flavor-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast". **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, p. 1937–1949, nov/dez. 2014.

REINOLD, M. R. **Manual Prático de Cervejaria**. São Paulo: Aden, 1997.

REITENBACH, AMANDA FELIPE. **Desenvolvimento de cerveja funcional com adição de probiótico: *Saccharomyces boulardii***. 2010. Dissertação (Mestrado Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2010.

SANTOS, M. S.; RIBEIRO, F. M. **Cervejas e refrigerantes**. São Paulo: CETESB, 2005. 58p. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/downloads/cervejas_refrigerantes.pdf>. Acesso em: 20 maio 2017.

SILVA, DANIEL PEREIRA. **Produção e avaliação sensorial de cerveja obtida a partir de mostos com elevadas concentrações de açúcares**. 2005. Tese (Doutorado Biotecnologia Industrial) - Universidade de São Paulo, Lorena, SP 2005.

SILVA, A. E. *et al.* Elaboração de cerveja com diferentes teores alcoólicos através de processos artesanais. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**. v.20, n.3, p. 369-374, jul./set. 2009.

SCHIMIDELL, W., LIMA, U.A.L.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial – Vol. 4**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001a.

SCHIMIDELL, W., LIMA, U.A.L.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial – Vol.2**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001b.

STANDAGE, T. **História do Mundo em 6 Copos**. Rio de Janeiro: ZAHAR, 2005.

TOZETTO, LUCIANO MOURO. **Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de gengibre (*zingiber officinale*)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2017.

VENTURINI, W. G. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005

APÊNDICES

APÊNDICE A - Planilha de Brassagem Stout

Estilo: Stout	Data: 11/10/2018	Hora:
----------------------	-------------------------	--------------

OG Planejada:	Densidade	°Plato	OG Real:	Densidade	°Plato
	1,047	17,1			
FG Planejada:	Densidade	°Plato	FG Real:	Densidade	°Plato
	1,012	3,0			
ABV Planejado: 7,8%			ABV % Real:		
IBU Planejado: 34			IBU Real:		
SRM Planejado: 38			SRM Real:		

Maltes e Grãos	Tipo	Quantidade
	Pale Ale	8,75 Kg
	Chocolate	200 g
	Cevada Torrada	150 g
	CaraMunich III	300 g
	Aveia em flocos	1 kg

Água: 60 litros	Início: 40 litros	Lavagem: 20 litros
------------------------	--------------------------	---------------------------

Arriamento:					
Rampa	Temperatura	Tempo	Horários		
1°	52°C	10 mim			
2°	66 °C	1 hora			
3°	72 °C	10 min			
4°	76 °C	10 min			

Recirculação:	Início:	Final:
----------------------	----------------	---------------

Sanitização do Fermentador	Início:	Final:
-----------------------------------	----------------	---------------

Fervura	Minutos	Lúpulo	Quantidade	Hora
60 min	60	Columbus 15,4%aa	30g	
	30	Columbus 15%aa	15g	
	0	Columbus 15%aa	15g	

Resfriamento:	Início:	Final:
	Temperatura Inicial:	Temperatura Final:
Whirlpool:	Início:	Final:

Transferência:	Hora:	Volume:
-----------------------	--------------	----------------

Fermentação	Início:		Final:
	Dias	Temperatura	Hora
13 dias	7	12 °C	
	1	13 °C	
	1	14°C	
	1	15 °C	
	1	16 °C	
	1	17 °C	
	1	18 °C	

Maturação: 14 dias	Início:	Final:
---------------------------	----------------	---------------

APÊNDICE B - Planilha de Brassagem Kolsh

Estilo: Kolsh	Data:	Hora:
----------------------	--------------	--------------

OG Planejada:	Densidade	°Plato	OG Real:	Densidade	°Plato
	1,048	11,9			
FG Planejada:	Densidade	°Plato	FG Real:	Densidade	°Plato
	1,010	2,6			
ABV Planejado: 5,0%			ABV % Real:		
IBU Planejado: 13			IBU Real:		
SRM Planejado: 11			SRM Real:		

	Tipo	Quantidade
Maltes e Grãos	Pilsen	5,8 Kg
	Trigo	600 g

Água: 45litros	Início: 30 litros	Lavagem: Litros
-----------------------	--------------------------	------------------------

Arriamento:					
Rampa	Temperatura	Tempo	Horários		
1°	43°C	15 mim			
2°	52 °C	15 mim			
3°	68 °C	60 min			
4°	76 °C	10 min			

Recirculação:	Início:	Final:
----------------------	----------------	---------------

Sanitização do Fermentador	Início:	Final:
-----------------------------------	----------------	---------------

Fervura	Minutos	Lúpulo	Quantidade	Hora
60 min	60	Spalter	10g	
	60	Saphir	10g	
	60	Saaz	10g	

Resfriamento:	Início:	Final:
	Temperatura Inicial:	Temperatura Final:
Whirlpool:	Início:	Final:

Transferência:	Hora:	Volume:
-----------------------	--------------	----------------

Fermentação	Início:		Final:
	Dias	Temperatura	Hora
8 dias	8	16 °C	

Maturação: 7 dias	Início:	Final:
	Hora:	Hora:

Envaze	Início:	Final:	Primer:	Garrafas:
	Hora:	Hora:	7g/L	

Recarbonatação	Início:	Final:	Pressão:
	Hora:	Hora:	

Anotações

APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a), da pesquisa *EMPREGO DE DUAS NOVAS CEPAS DE LEVEDURA NACIONAL NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL TIPO ALE.*, no caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o seu pesquisador(a) ou com a instituição. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço do pesquisador(a) principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação

TÍTULO DA PESQUISA: Emprego de Duas Novas Cepas de Levedura Nacional na Produção de Cerveja Artesanal Tipo ALE.

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Marlus Pinheiro Rolemberg

ENDEREÇO: Campus Avançado de Poços de Caldas -Rodovia José Aurélio Vilela, nº 11.999. Cidade Universitária

TELEFONE: (35) 3697-4720

PESQUISADORES PARTICIPANTES: acadêmicos: Augusto César Januario

OBJETIVO: Analisar as características sensoriais de três tipos de cervejas produzidas com duas novas cepas de levedura *saccharomyces cerevisiae* do tipo ale.

JUSTIFICATIVA: Com eminente potencial para crescer e oferecer um número cada vez maior de cervejas de qualidade é necessário o estudo de novas tecnologias e matérias-primas nacionais, para que as microcervejarias consigam conquistar uma fatia maior no mercado e assim aumentar sua contribuição no mercado cervejeiro nacional.

PROCEDIMENTO DE ESTUDO: Será realizada coleta de dados de forma simples e rápida, através da degustação de amostras de diferentes formulações de cerveja. A degustação será dividida em três partes, onde em cada uma serão fornecidas três amostra de cada um dos tipos de cerveja produzidos, cada amostra feita com uma levedura diferente, uma com uma levedura comercia e duas com as novas cepas que estão sendo estudadas. Será fornecida a mim, ficha de preenchimento da aceitação ou não do produto, utilizando escala hedônica. Os resultados, após analisados, serão divulgados e publicados.

RISCOS E DESCONFORTOS: Apesar das preparações serem elaboradas com ingredientes seguros, em quantidades permitidas pela legislação e seguindo as boas práticas de manipulação, o provador eventualmente poderá apresentar alergia a algum ingrediente. Neste caso, será imediatamente orientado a procurar assistência médica. Pode haver constrangimento dos provadores ao provar o alimentos dentro de cabines individuais, portanto, para minimizar o desconforto será realizada uma abordagem individual para explicar o procedimento. Não haverá risco financeiro ao participar deste estudo.

BENEFÍCIO: Desenvolvimento e aceitação de cervejas produzidas com leveduras nacionais.

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE: Não haverá nenhum gasto ou pagamento com a sua participação na pesquisa, podendo desistir de participar da pesquisa a qualquer momento sem nenhum prejuízo.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: Seu nome não será divulgado, sendo preservada sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

Assinatura do Pesquisador Responsável: _____

Eu, _____, declaro que li as informações contidas nesse documento, fui devidamente informado(a) pelo pesquisador(a) – Marlus Pinheiro Rolemberg – dos procedimentos que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes, confidencialidade da pesquisa, concordando ainda em participar da pesquisa. Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem nenhuma penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento. Declaro ainda que recebi uma cópia desse Termo de Consentimento. Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados.

Andradas-MG, _____ de _____ de 2019

(Nome por extenso)

(Assinatura)

APÊNDICE D - Ficha de Avaliação Sensorial da Cerveja

Nome: _____ Data: ____ / ____ / ____

Sexo: M () F () Idade: _____ anos

Prove cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra em relação à aparência, aroma, sabor, textura e impressão global.

9 – gostei muitíssimo

8 – gostei muito

7 – gostei moderadamente

6 – gostei ligeiramente

5 – nem gostei / nem desgostei

4 – desgostei ligeiramente

3 – desgostei moderadamente

2 – desgostei muito

1 – desgostei muitíssimo

Amostra nº	Aroma	Sabor	Espuma	Aparência	Impressão Global

Se este produto estivesse à venda nos supermercados, qual seria sua atitude?

- () Certamente compraria
- () Provavelmente compraria
- () Tenho dúvida se compraria ou não
- () Provavelmente não compraria
- () Certamente não compraria

APÊNDICE E - Preparação do Inoculo

Valores obtidos para o crescimento celular (células/mL) durante a preparação do inoculo para a cerveja Stout:

Dias	UFMG 228	UFMG 030
0	0	0
1	$1,23 \times 10^6$	1×10^6
2	$5,23 \times 10^6$	$4,53 \times 10^6$
3	$9,8 \times 10^6$	$9,2 \times 10^6$
4	$1,35 \times 10^7$	$1,23 \times 10^7$

Valores obtidos para o crescimento celular (células/mL) durante a preparação do inoculo para a cerveja Kolsh:

Dias	UFMG 228	UFMG 030
0	0	0
1	$1,23 \times 10^6$	1×10^6
2	$5,23 \times 10^6$	$4,53 \times 10^6$
3	$9,8 \times 10^6$	$9,2 \times 10^6$
4	$1,18 \times 10^7$	$1,11 \times 10^7$

APÊNDICE F - Crescimento celular

Valores obtidos para o crescimento celular (células/mL) durante a fermentação da cerveja Stout:

Dias	UMFG 228	UFMG 030	S-05
0	$1,23 \times 10^7$	$1,35 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$
1	$5,4 \times 10^7$	$5,95 \times 10^7$	$5,12 \times 10^7$
2	$1,02 \times 10^8$	$1,09 \times 10^8$	$1,01 \times 10^8$
3	$1,15 \times 10^8$	$1,21 \times 10^8$	$1,13 \times 10^8$
4	$1,29 \times 10^8$	$1,33 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$
5	$1,36 \times 10^8$	$1,47 \times 10^8$	$1,29 \times 10^8$
6	$1,49 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$1,45 \times 10^8$
7	$1,31 \times 10^8$	$1,49 \times 10^8$	$1,28 \times 10^8$
8	$1,23 \times 10^8$	$1,33 \times 10^8$	$1,21 \times 10^8$
9	$1,15 \times 10^8$	$1,19 \times 10^8$	$1,11 \times 10^8$
10	$1,02 \times 10^8$	$1,08 \times 10^8$	$9,9 \times 10^7$
11	$9,77 \times 10^7$	$9,91 \times 10^7$	$7,51 \times 10^7$
12	$6,45 \times 10^7$	$7,12 \times 10^7$	$5,11 \times 10^7$
13	$5,12 \times 10^7$	$7,01 \times 10^7$	$3,98 \times 10^7$
14	$5,08 \times 10^7$	$6,97 \times 10^7$	$3,94 \times 10^7$
15	$5,01 \times 10^7$	$6,94 \times 10^7$	$3,91 \times 10^7$

Valores obtidos para o crescimento celular (células/mL) durante a fermentação da cerveja Kolsh:

Dias	UMFG 228	UFMG 030	K-97
0	$1,25 \times 10^7$	$1,32 \times 10^7$	$1,21 \times 10^7$
1	$5,6 \times 10^7$	$5,83 \times 10^7$	$5,4 \times 10^7$

2	$1,05 \times 10^8$	$1,12 \times 10^8$	$9,98 \times 10^7$
3	$1,32 \times 10^8$	$1,44 \times 10^8$	$1,25 \times 10^8$
4	$1,29 \times 10^8$	$1,42 \times 10^8$	$1,22 \times 10^8$
5	$1,26 \times 10^8$	$1,29 \times 10^8$	$1,17 \times 10^8$
6	$1,12 \times 10^8$	$1,18 \times 10^8$	$1,09 \times 10^8$
7	$8,5 \times 10^7$	$9,5 \times 10^7$	$7,9 \times 10^7$
8	$6,3 \times 10^7$	$7,6 \times 10^7$	$6,1 \times 10^7$
9	$5,1 \times 10^7$	$5,9 \times 10^7$	$4,9 \times 10^7$
10	$3,8 \times 10^7$	$4,3 \times 10^7$	$3,2 \times 10^7$
11	$3,6 \times 10^7$	$4,21 \times 10^7$	$2,89 \times 10^7$
12	$3,45 \times 10^7$	$4,12 \times 10^7$	$2,61 \times 10^7$

APÊNDICE G - Resultados Concentração do Mosto (P) e Graduação Alcólica

Valores obtidos para a Concentração do Mosto (P) e Graduação Alcólica para a cerveja Stout.

Dias	UFMG 228		UFMG 030		S-05	
	Concentração (P)	Graduação Alcólica (%v/v)	Concentração (P)	Graduação Alcólica (%v/v)	Concentração (P)	Graduação Alcólica (%v/v)
0	17,1	0	17,1	0	17,1	0
1	16,3	0,4	16,5	0,3	16,8	0,1
2	14,5	1,5	14,8	1,3	15,1	1,1
3	12,8	2,4	13	2,3	13,5	2
4	11,4	3,2	11,6	3,1	11,9	3
5	10,1	4	10,4	3,8	10,5	3,8
6	8,5	4,8	8,9	4,7	9,3	4,4
7	7,2	5,5	7,6	5,4	7,9	5,2
8	6	6,2	6,4	6	6,6	5,9
9	5,1	6,7	5,6	6,4	5,8	6,3
10	4,3	7,1	4,8	6,8	5	6,7
11	3,9	7,4	4,4	7,1	4,8	6,8
12	3,4	7,7	3,9	7,4	4,4	7,1
13	3	7,8	3,5	7,5	3,9	7,4
14	3	7,8	3,5	7,5	3,9	7,4
15	3	7,8	3,5	7,5	3,9	7,4

Valores obtidos para a Concentração do Mosto (P) e Graduação Alcólica para a cerveja Kolsh.

Dias	UFMG 228		UFMG 030		K-97	
	Concentração (P)	Graduação Alcólica (%v/v)	Concentração (P)	Graduação Alcólica (%v/v)	Concentração (P)	Graduação Alcólica (%v/v)
0	11,3	0	11,3	0	11,3	0
1	10,8	0,3	11	0,1	11,2	0
2	9,5	0,9	10,2	0,5	10,5	0,4
3	7,9	1,9	8,3	1,6	8,6	1,5
4	6,2	2,8	6,7	2,4	7	2,3
5	5,1	3,4	5,4	3,2	5,8	3
6	4	3,9	4,4	3,8	4,9	3,5
7	3,7	4,2	4	3,9	4,3	3,8
8	3,2	4,3	3,5	4,2	3,9	4
9	2,9	4,6	3,3	4,3	3,6	4,2
10	2,6	4,7	3	4,4	3,4	4,3
11	2,6	4,7	3	4,4	3,4	4,3
12	2,6	4,7	3	4,4	3,4	4,3