



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

ROBERTO CAMPOS NUNES FILHO

**PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL ESTILO RED ALE  
COM ADIÇÃO DE ESPECIARIAS**

---

Londrina  
2017

**ROBERTO CAMPOS NUNES FILHO**

**PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL ESTILO RED ALE  
COM ADIÇÃO DE ESPECIARIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof. Dra. Wilma Aparecida Spinosa

Coorientadora: Prof. Dra. Marta de Toledo Benassi

Londrina  
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Nunes Filho, Roberto Campos Nunes Filho.

Produção de cerveja artesanal estilo red ale com adição de especiarias / Roberto Campos Nunes Filho Nunes Filho. - Londrina, 2017.  
85 f. : il.

Orientador: Wilma Aparecida Spinosa Spinosa.

Coorientador: Marta de Toledo Benassi Benassi.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2017.  
Inclui bibliografia.

1. Cerveja artesanal. - Tese. 2. Cúrcuma. - Tese. 3. Pimenta-do-reino - Tese. 4. Bebidas fermentadas. - Tese. I. Spinosa, Wilma Aparecida Spinosa. II. Benassi, Marta de Toledo Benassi. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

ROBERTO CAMPOS NUNES FILHO

**PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL ESTILO RED ALE COM  
ADIÇÃO DE ESPECIARIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Wilma Aparecida Spinosa  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Fábio Yamashita  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Márcio Caliari  
Universidade Federal de Goiás - UFG

Londrina, 7 de abril de 2017.

NUNES FILHO, Roberto. Campos. **Produção de Cerveja Artesanal Estilo Red Ale com Adição de Especiarias**. 2017. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, 2017.

## RESUMO

A cerveja é considerada pela população brasileira como a bebida que a representa, e no país a produção anual é de mais de 13 bilhões de litros, sendo o consumo per capita em torno dos 70 litros, menos que a metade do valor do de países como Alemanha e República Tcheca. A bebida, quando ingerida com parcimônia, é comprovada como benéfica a saúde, devido aos seus compostos provenientes dos insumos. Em face aos fatores expostos acima, associados ao crescimento da linha de bebidas Premium, o presente trabalho se propôs a desenvolver uma cerveja puro malte estilo Red Ale com adição de especiarias, entre elas o açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) e a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), pelo fato de terem características sensoriais exclusivas e comprovada atividade antioxidante, e assim avaliar os potenciais ganhos relacionados aos aspectos sensoriais e aumento de compostos bioativos na bebida. As cervejas foram preparadas pelo método de infusão, e posteriormente fermentada por leveduras *Saccharomyces cerevisiae* à temperatura de 19 °C até completa atenuação do álcool. Subsequentemente, a bebida foi submetida ao estágio de maturação. A proposta foi utilizar um planejamento de mistura do tipo simplex centróide para comparar às cervejas com o uso de especiarias. Estas foram adicionadas na etapa de maturação na forma de extrato: a cúrcuma na proporção de 1 g/L, e a pimenta-do-reino na concentração de 1,5 g/L de mosto. Em comparação, o lúpulo foi adicionado ao final da fervura e na maturação, totalizando uma concentração de 5 g/L. No planejamento também foram avaliadas as combinações de mistura das especiarias, sendo as misturas binária e terciária das mesmas. Nas cervejas obtidas foram determinados os seguintes parâmetros físico-químicos: cor e amargor por espectroscopia, os extratos primitivo, real, aparente, densidade, o teor alcoólico, a atenuação por infravermelho próximo e pH pelo método potenciométrico. Nas análises, os resultados seguem as normas estabelecidas pela EBC (European Brewery Convention). Para a análise de compostos fenólicos foi empregada a espectrofotometria, utilizando o reagente Folin – Ciocalteu e os resultados, expressos em relação ao ácido gálico. A atividade antioxidante foi determinada por métodos espectrofotométricos, utilizando padrão Trolox, os ensaios foram DPPH e FRAP. As cervejas foram avaliadas sensorialmente por análise descritiva adaptada do Perfil Flash, em que o julgador acostumado descreveu com suas próprias palavras os atributos, e foi feita uma descrição das amostras comparadas simultaneamente. Os resultados das análises foram respectivamente nas faixas de 30,7 – 34,3 EBC, 14,67 – 68,9 IBU, 11,9 – 13,1 °P, 3,1 – 3,9 °P, 0,9 – 1,8 °P, 1,001 – 1,009, 4,75 – 5,03%, 69,9 – 75,1 %, 4,32 - 4,48, 210,72 – 300 mg GAE/L, 0,52 – 0,80 mmol/L Trolox, 316,67 – 405,67 mmol/L Trolox.

**Palavras-chave:** Cúrcuma. Pimenta-do-Reino. Antioxidante. Compostos Fenólicos. Fermentação Alcoólica.

NUNES FILHO, Roberto Campos. **Production of Craft Red Ale Style Beer with Spices Added**. 2017. 108 p. Dissertation (Master Degree in Food Science) – Londrina State University, 2017.

## ABSTRACT

Beer is considered by Brazilian population as the beverage that represents it and the annual production in the country is larger than 13 billion liters, with the ingestion per capita surrounding 70 liters, less than half the amount of countries as Germany and Czech Republic. The drink, when drunk with austerity, is proved good for health, due to its compounds provided by the inputs. Considering that, and combined to the growth of Premium beverages, the present work intends to develop a pure malt Red Ale beer with spices added, such as turmeric (*Curcuma longa*) and Black pepper (*Piper nigrum*), considering its exclusive sensory characteristics and known antioxidant activities, also considering their sensory gains and the improvement of bioactive compounds. The ales shall be prepared in the infusion method, later being soured by *Sacharomyces cerevisiae* yeasts at 19°C, until the complete extenuation of the alcohol. Next, the beverage enters the process of maturation. The idea was to use a planned simplex-centroid kind mixes to compare the beers with spices added. These were put at the maturation moment as an extract: turmeric in the proportion of 1g/L, while Black pepper in the concentration of 1,5g/L of must. In comparison, the hop will be put after it boils and at the maturation, in a total of 5g/L concentration. There were also plans for the newly mixed beers evaluation, with binaries and tertiary mixes. From the obtained beers the following physical and chemical parameters will be determined: color and bitterness by spectroscopy, primitive, real and apparent extracts, density and alcoholic content and mitigation by near infrared, and pH with the potentiometric method, following the orders of the European Brewery Convention (EBC). For the phenolic compounds analysis the spectrophotometry will be applied, using the Folin-Ciocalteu reagent, with the results being expressed related to the gallic acid. Antioxidant activity was determined by the spectrophotometry methods DPPH and FRAP in the Trolox standard. The beers' sensory will be examined using an adapted descriptive analysis of Flash Profile, in which a familiar judge has described in its own words the aspects of the drink and of the presented samples simultaneously. The analysis' results remained, respectively, in ranges from 30,7 – 34,3 EBC, 14,67 – 68,9 IBU, 11,9 – 13,1 °P, 3,1 – 3,9 °P, 0,9 – 1,8 °P, 1,001 – 1,009, 4,75 – 5,03%, 69,9 – 75,1 %, 4,32 - 4,48, 210,72 – 300 mg GAE/L, 0,52 – 0,80 mmol/L Trolox, 316,67 – 405,67 mmol/L Trolox.

**Keywords:** Turmeric. Black Pepper. Antioxidant. Phenolic Compounds. Alcoholic Fermentation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01 -</b>	Reação de isomerização dos $\alpha$ -ácidos .....	19
<b>Figura 02 -</b>	Representação estrutural dos curcuminóides .....	20
<b>Figura 03 -</b>	Fluxograma do processo de produção de mosto, etapa quente .....	22
<b>Figura 04 -</b>	Fluxograma do processo de produção de cerveja, etapa fria .....	23
<b>Figura 05 -</b>	Estrutura de flavonóides fenólicos .....	38
<b>Figura 06 -</b>	Representação do módulo para a obtenção do mosto cervejeiro .....	43
<b>Figura 07 -</b>	Região de combinação entre as variáveis para compostos fenólicos totais em cervejas jovens .....	56
<b>Figura 08 -</b>	Região de combinação entre as variáveis para compostos fenólicos totais em cervejas envelhecidas .....	57
<b>Figura 09 -</b>	Região de combinação entre as variáveis para atividade anti oxidante DPPH em cervejas jovens .....	60
<b>Figura 10 -</b>	Região de combinação entre as variáveis para atividade anti oxidante DPPH em cervejas envelhecidas .....	61
<b>Figura 11 -</b>	Região de combinação entre as variáveis para atividade anti oxidante FRAP em cervejas jovens .....	63
<b>Figura 12 -</b>	Região de combinação entre as variáveis para atividade antioxidante FRAP em cervejas envelhecidas .....	64
<b>Figura 13 -</b>	Distribuição da variância residual dos julgadores na avaliação das amostras jovens (A) e envelhecidas (B).....	65
<b>Figura 14 -</b>	Configuração geral dos julgadores na avaliação das amostras jovens (A) e envelhecidas (B).....	65
<b>Figura 15 -</b>	Configuração de consenso da solução bidimensional das amostras de cervejas jovens (A) e envelhecidas (B) .....	67
<b>Figura 16 -</b>	Distribuição de variância na solução bidimensional para as amostras jovens (A) e envelhecidas (B).....	67

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01 -</b>	Enzimas e suas atividades ótimas na mostura do malte de Cevada.....	26
<b>Tabela 02 -</b>	Combinações de cervejas obtidas segundo o delineamento de mistura simplex-centroide e etapas de adição das especiarias.....	46
<b>Tabela 03 -</b>	Caracterização físico-química das cervejas seguindo o delineamento de misturas.....	52
<b>Tabela 04 -</b>	Quantidade de compostos fenólicos totais em equivalência com ácido gálico para amostras recém-preparadas e envelhecidas em garrafa por 196 dias.....	54
<b>Tabela 05 -</b>	Atividade antioxidante DPPH com equivalência em Trolox para amostras jovens e envelhecidas na garrafa.....	58
<b>Tabela 06 -</b>	Atividade antioxidante FRAP com equivalência em Trolox para amostras de cervejas jovens e envelhecidas em garrafa.....	62
<b>Tabela 07 -</b>	Explicação (%) da solução bidimensional das amostras jovens e envelhecidas.....	66

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	12
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>13</b>
3.1	ESTILOS DE CERVEJA .....	13
3.2	PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE CERVEJA NO BRASIL .....	15
3.2.1	Cerveja .....	15
3.2.2	Quanto ao Extrato Primitivo .....	15
3.2.3	Quanto ao Teor Alcoólico .....	16
3.2.4	Quanto à proporção de Malte e Cevada .....	16
3.3	INSUMOS CERVEJEIROS .....	16
3.3.1	Água .....	16
3.3.2	Malte de Cevada .....	17
3.3.3	Lúpulo .....	18
3.4	ESPECIARIAS .....	20
3.4.1	Açafrão da Terra .....	20
3.4.2	Pimenta-do-Reino .....	21
3.5	PROCESSO DE PRODUÇÃO DA CERVEJA .....	22
3.5.1	Moagem .....	23
3.5.2	Mostura .....	24
3.5.3	Filtração .....	27
3.5.4	Fervura .....	28
3.5.5	Fermentação .....	29
3.5.5.1	Formação de compostos durante a fermentação .....	31
3.5.6	Maturação e Armazenamento .....	35
3.5.7	Envase .....	36
3.6	COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NA CERVEJA .....	36
3.7	ESTABILIDADE E ASPECTOS SENSORIAIS DA CERVEJA .....	39
3.7.1	Estabilidade de Sabor, Aroma e Coloidal .....	39

3.7.2	Análise Sensorial.....	40
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>42</b>
4.1	MATERIAIS .....	42
4.2	MÉTODOS .....	42
4.2.1	Formulação e Modo de Obtenção da Cerveja.....	42
4.2.2	Cervejas Adicionadas de Especiarias .....	44
4.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	45
4.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	46
4.4.1	Análise de Cor.....	46
4.4.2	Análise de Amargor .....	47
4.4.3	Análise de Extrato Primitivo, Real e Aparente e Teor Alcoólico .....	47
4.4.4	Análise de pH .....	47
4.5	ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ANTIOXIDANTES .....	47
4.5.1	Análise de Fenólicos Totais.....	48
4.5.2	Atividade Antioxidante pelo Método de Captura de Radical Livre-DPPH .....	48
4.5.3	Atividade Antioxidante pelo Método de Redução do Ferro- FRAP.....	48
4.6	ANÁLISE SENSORIAL DESCRITIVA .....	49
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	50
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
5.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	51
5.2	ANÁLISES DE FENÓLICOS TOTAIS E ANTIOXIDANTES .....	54
5.2.1	Determinação de Compostos Fenólicos.....	54
5.2.2	Atividade Oxidante DPPH .....	58
5.2.3	Atividade Oxidante FRAP.....	62
5.3	ANÁLISE SENSORIAL FLASH .....	64
5.3.1	Avaliação do Desempenho da Equipe .....	64
5.3.2	Análise das Bebidas .....	66
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>70</b>

<b>REFERENCIAS BIBLIIOGRÁFICAS</b> .....	71
APÊNDICE A.....	80
APÊNDICE B.....	82
APÊNDICE C .....	84

## 1. INTRODUÇÃO

O processo de fermentação de bebidas é conhecido pelo ser humano há mais de seis mil anos, e a ciência e tecnologias empregadas na produção da bebida estão em constante evolução. Ela é composta basicamente por quatro insumos, que são a água, malte de cevada, lúpulo e a levedura. A grande variedade dos mesmos junto aos detalhes do processo promove as diversas cervejas disponíveis atualmente no mercado. As cervejas podem ser divididas por estilos e cada uma apresenta características próprias (MORADO, 2009).

A tendência de refinamento sensorial, guiada pela sofisticação do paladar e apoiada pela tecnologia, levou a uma grande variedade de oferta ao consumidor final. Como negócio, a indústria cervejeira é bastante diversificada e características familiares e regionais convivem com grandes corporações de alcance mundial. É um dos negócios mais antigos do mundo e esteve sempre na ponta do desenvolvimento técnico e econômico de muitas comunidades e países (BAMFORTH, 2003).

No Brasil, o setor cervejeiro corresponde a 1,6% do PIB e representa 14% da indústria de transformação, chegando a um faturamento anual de 70 bilhões de reais. O país ocupa a terceira posição na produção da bebida com um montante de 14,1 bilhões de litros fabricados em 2014 e ocupa a vigésima quarta posição em consumo *per capita* com a média de 68,3 litros segundo a ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DA CERVEJA (CERVBRASIL, 2014). Segundo esses dados, o Brasil ainda tem um grande mercado a ser explorado no segmento de cervejas *Premium*.

Do ponto de vista nutricional, a cerveja contém quantidades significativas de vitaminas do complexo B, principalmente folatos, riboflavina e selênio, além de possuir compostos antioxidantes devido à composição do malte e do lúpulo. Por ter capacidade antioxidante e baixo teor alcoólico, a cerveja é capaz de melhorar a atividade antioxidante do plasma, reduzindo o risco de doenças coronárias, sem apresentar os aspectos negativos produzidos por altas doses de etanol. Dessa forma, o seu consumo moderado é capaz de influenciar positivamente no nível de lipídeos do plasma e na sua capacidade anticoagulante (SIQUEIRA, BOLINI e MACEDO, 2008).

Historicamente, o uso de diversas especiarias, além do lúpulo, já foi observado na elaboração de cervejas, como era no caso da mistura de especiarias chamada *gruit*, no território europeu, no ano de 500. A utilização das mesmas para a fabricação da bebida é aceitável e almejadas no mercado de hoje (BELTRAMELLI, 2012). Segundo relatado por Cecilho Filho et al. (2000) e Park et al. (2012), o açafrão da terra e a pimenta-do-reino são utilizados na medicina oriental devido aos seus compostos naturais que apresentam eficácia clínica comprovada em diversas áreas da saúde e características sensoriais particulares, podendo ser sugerido o incremento dessas em uma bebida fermentada.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho visa o desenvolvimento de cerveja artesanal do estilo *Red Ale* com adição das especiarias cúrcuma (*Curcuma longa*), pimenta-do-reino (*Piper Nigrum*), ambas na forma de extrato alcoólico, e o lúpulo (*Humulus lupulus*), para analisar as suas influências nas propriedades sensoriais (análise descritiva do tipo Perfil *Flash*), físico-químicas (cor, amargor, extrato primitivo, extrato real e aparente, atenuação, teor alcoólico e pH) e dos compostos bioativos (análises espectrofotométricas para compostos fenólicos totais e atividades antioxidantes via DPPH e FRAP) do produto acabado.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ESTILOS DE CERVEJA

Os estilos de cerveja se diferenciam de acordo com os insumos utilizados e com os micro-organismos usados na etapa de fermentação do produto. A quantidade e os tipos de malte influenciam na cor, graduação alcoólica e sabor da bebida. Já o lúpulo confere aroma e sabor característicos, e sua principal função é a de amargar a cerveja. Já a água por sua vez, tem influência direta nos sabores provenientes do malte e do lúpulo de acordo com os sais minerais contidos nela (BAMFORTH, 2003).

A levedura é o principal micro-organismo utilizado na bebida, ele pode ser de linhagens do tipo *lager* que atuam em temperaturas baixas, entre 9 e 12°C, conferindo neutralidade à bebida. Existem também aquelas do tipo *ale* que atuam em temperaturas altas, entre 17 a 25°C, trazendo notas frutadas no sabor e aroma. Outros micro-organismos podem determinar o estilo da cerveja, como bactérias ácido lácticas (BAL) ou leveduras selvagens do tipo *Brettanomyces* (VRIESEKOOOP et al., 2009; BJCP, 2015).

O guia de estilos chamado *Beer Judge Certification Program* (BJCP, 2015) é um dos mais utilizados para categorização de cervejas artesanais em campeonatos. Nele os estilos são divididos de acordo com suas semelhanças ou regiões de origem e apresenta uma descrição de cada estilo de cerveja dentro de sua categoria e uma estimativa de faixa de alguns atributos importantes da cerveja, como a cor (SRM), amargor (IBU) e graduação alcoólica (%). O guia ainda trás definições específicas para degustação, como o *drinkability*, que é relativo à palatabilidade da bebida, e o caráter limpo da fermentação como *crisp*, relacionada com o paladar e retrogosto com um final bem definido e de quebra da sensação do atributo. A unidade de cor segundo a convenção europeia (EBC, 2010) é igual ao produto da multiplicação do valor em SRM por 1,97.

O guia apresenta três estilos diferentes de cervejas *Red Ales*, sendo uma na versão irlandesa e outras duas, norte-americanas. As cervejas irlandesas são conhecidas por serem de alta fermentação e apresentar o perfil de aroma específicos do malte. A cor varia de cobre a âmbar avermelhado (18 – 28 EBC) até cervejas escuras (50 – 80 EBC), e o amargor delas varia de moderado até

alto (18 – 50 IBU). A cerveja *Irish Red Ale* é uma cerveja com corpo médio e alto *drinkability*, que prioriza as características sensoriais provenientes do malte de cevada, moderado amargor (18 – 28 IBU), um perfil de fermentação limpo, podendo apresentar baixa presença de notas frutadas provenientes dos ésteres, e graduação alcoólica entre 3,8 a 5,0% ABV. Para as cervejas escuras denominadas de *Stout*, a presença de notas torradas deve ser perceptível tanto no aroma como no sabor e essa pode vir aumentar a sensação de amargo na bebida (BJCP, 2015).

Uma das duas variantes americanas é a *American Amber Ale*. Nesse estilo a cerveja apresenta graduação alcoólica de moderada a alta (4,5 – 6,2 % ABV) e a cor varia desde âmbar claro até o cobre marrom (20 – 34 EBC) devido à presença de maltes especiais na composição da receita. Nesse estilo de corpo médio para alto, o sabor e o aroma são caracterizados por notas maltadas e de caramelo, porém a presença de lúpulos com características cítricas, frutadas e resinosas provenientes da Austrália, Nova Zelândia e Estados Unidos, tanto no aroma como no sabor, também estão presentes, sendo que o objetivo do estilo é o equilíbrio dessas notas com o amargor (20 – 45 IBU). A cerveja *Brown Ale* pertencente à mesma categoria e apresenta características semelhantes entre o equilíbrio do malte com o lúpulo, porém sua cor é tende ao marrom escuro (36 – 70 EBC) devido à presença de maltes tostados de cor mais escura (BJCP, 2015).

As cervejas do estilo *India Pale Ale* ficaram populares no século 17 no império Britânico durante o controle do território da Índia. Como a cerveja servia de provisão ao exército, as únicas que aguentavam as condições da longa viagem apresentando baixa deterioração eram as bebidas que apresentavam alto valor de extrato primitivo, juntamente com altas taxas de atenuação e de lupulagem (VRIESEKOOOP et al., 2009). Com a revolução da cerveja artesanal nos Estados Unidos, essas cervejas ganharam uma categoria própria e se caracterizam por apresentarem aroma e sabor intenso de lúpulos e um amargor pronunciado (40 – 100 IBU). As variações de graduação alcoólica são de baixa a alta concentração (3 – 10 %), as cores vão desde dourada até o preto (10 – 80 EBC), e com perfil de fermentação dos mais variados possíveis, utilizando leveduras de diferentes linhagens. As cervejas avermelhadas nessa categoria

são conhecidas por *Red IPA* e suas características principais são a graduação alcoólica alta (5,5 – 7,5% ABV), sua cor âmbar avermelhada até o cobre escuro (22 – 38 EBC) e o alto amargor (40 – 70 EBC). Com o corpo de leve para médio, as notas maltadas e tostadas dão suporte para a utilização de altas cargas de lúpulo, incluindo também na utilização do mesmo na etapa de maturação (*dry hopping*), ocasionando turbidez na bebida (BJCP, 2015).

### 3.2 PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE CERVEJA NO BRASIL

No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento registra e fiscaliza as bebidas alcoólicas e não alcoólicas. A qualidade na elaboração e industrialização desses produtos deve ser atestada para que não ofereçam riscos à saúde humana. As matérias-primas inadequadas para consumo devem ser isoladas durante os processos produtivos para evitar contaminação química, física ou microbiológica. A legislação brasileira define os seguintes termos relacionados à bebida fermentada na indústria: (BRASIL, 2001).

#### 3.2.1 Cerveja

Cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto de malte de cevada e água potável, por ação da levedura cervejeira, com adição de lúpulo ou seu extrato, podendo parte do malte ser substituído por cereais maltados ou não, ou por carboidratos de origem vegetal. É facultativa a adição de outra matéria-prima amilácea ou de lúpulo (BRASIL, 2001).

#### 3.2.2 Quanto ao Extrato Primitivo

O extrato original ou primitivo é a quantidade de sólidos solúveis antes de iniciar o processo de fermentação; é o extrato originado no começo do cozimento, e sua unidade é dada em graus Brix (°Bx) ou Platô (°P). O extrato aparente é medido durante o processo de fermentação, o nome aparente é dado devido ao erro analítico originado pelo álcool, que possui uma densidade diferente da água. Extrato real é o extrato medido durante o processo de fermentação, considerando a correção da densidade do álcool (BRASIL, 2001).

Dessa forma, é possível classificar a bebida de acordo com o seu extrato, onde se dividem em cervejas leves, com o extrato primitivo entre 5% a 10,5%

em massa, até fortes com o extrato acima de 14% em massa. As cervejas comuns apresentam-se em uma faixa de extrato entre 10,5% até 12,5% em massa (BRASIL, 2001).

### 3.2.3 Quanto ao Teor Alcoólico

Essa classificação é feita através da medida de porcentagem de álcool existente na cerveja, e é função do seu extrato primitivo com o percentual de extrato que foi fermentado (atenuação) no seu processo de fabricação. Elas podem ser divididas em duas classes, com e sem álcool (BRASIL, 2001).

As cervejas com álcool devem apresentar conteúdo alcoólico igual ou superior a 0,5% em volume e deve obrigatoriamente constar no rótulo o percentual de álcool em volume. A quantidade de álcool contida na bebida a divide em baixo, médio e alto teor, sendo seus limites em 0,5 até 2,0%, 2,0% até 4,5%, e 4,5 a 7%, respectivamente. Por sua vez, as cervejas sem álcool devem apresentar um conteúdo alcoólico menor que 0,5% em volume, não sendo obrigatória a declaração no rótulo (BRASIL, 2001).

### 3.2.4 Quanto à Proporção de Malte de Cevada

Para uma cerveja ser puro malte ela deve possuir 100% de malte de cevada em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares. Assim, quando a proporção de malte de cevada for maior ou igual a 50% em peso, sobre o extrato primitivo, segundo a legislação ela é chamada de cerveja. Caso a proporção seja maior que 20% e menor que 50% em peso, é necessário colocar o nome do vegetal utilizado (BRASIL, 2001).

## 3.3 INSUMOS CERVEJEIROS

### 3.3.1 Água

O sabor, a estabilidade sensorial e a espuma são fortemente influenciados pela qualidade da água. Considera-se que mais de 90% dos parâmetros de composição da cerveja, assim como a história e origem dos estilos, são explicados pela característica da água das regiões de fabricação (BAMFORTH, 2003).

O pH da água cervejeira tem grande importância no processo de obtenção de mosto e impacta na cor, na coagulação protéica e na ação enzimática. Dessa forma a mostura e a fervura devem ser conduzidas na faixa de pH entre 5,3 – 5,5 e 5,10 - 5,30 respectivamente (EUMANN e SCHILDBACH, 2012).

A alcalinidade elevada da água provoca inibição das enzimas presentes no malte acarretando em um baixo rendimento e sacarificação mais lenta. Isto leva a problemas de filtragem e afeta negativamente na solubilização das proteínas. Diminui também o nível de nitrogênio e aminas livre (*free amine and nitrogen – FAN*) e causa problemas na fermentação e na estabilidade do produto (PALMER e KAMINSKY, 2013).

Segundo Palmer e Kaminsky (2013), Eumann e Schildbach (2012) e Gibson (2011), os íons dissolvidos na água cervejeira têm grande importância no perfil final da bebida. Os mais importantes são o cálcio, magnésio, sódio, ferro, cloretos, carbonatos e sulfatos. Estes interferem no efeito de tamponamento do mosto, na atividade das enzimas do malte, no metabolismo e floculação das leveduras e até no perfil sensorial da cerveja.

### 3.3.2 Malte de Cevada (*Hordeum vulgare*)

A cevada (*Hordeum vulgare*) que sofreu o processo de malteação é chamada de malte de cevada. O malte de cevada é um dos principais ingredientes utilizados na produção de cerveja (LI et al., 2015).

Além de ser fonte de amido também contribui nas características sensoriais da bebida. O processo de maltagem ocorre em três etapas: o crescimento inicial do grão é conhecido como infusão, seguido da germinação em que ocorre a formação de malte verde e por último a secagem ou torrefação, que é o tratamento térmico do malte verde (CARVALHO et al., 2014).

Na primeira etapa, a umidade do meio é elevada para iniciar a germinação do grão, e esse é lavado constantemente para a remoção de inibidores, sendo a água utilizada nesse processo isenta de contaminantes. Na segunda etapa, o objetivo é alcançar uma boa modificação bioquímica, e para isso se deve controlar a quebra das paredes celulares e matrizes protéicas, otimizar o nível de produção das enzimas hidrolíticas como amilases e proteases, e hidrolisar

reservas do malte, como proteína para formação de nitrogênio e aminas livres (FAN). Na terceira etapa o malte verde cessa as transformações de modificação e crescimento da planta pela redução da umidade do meio, por secagem. Deseja-se conservar o complexo enzimático obtido nas etapas anteriores, nessa fase é necessário controlar a temperatura e vazão do ar de secagem, assim o malte de cevada desenvolve cor, sabor e aroma (EßLINGER, 2009).

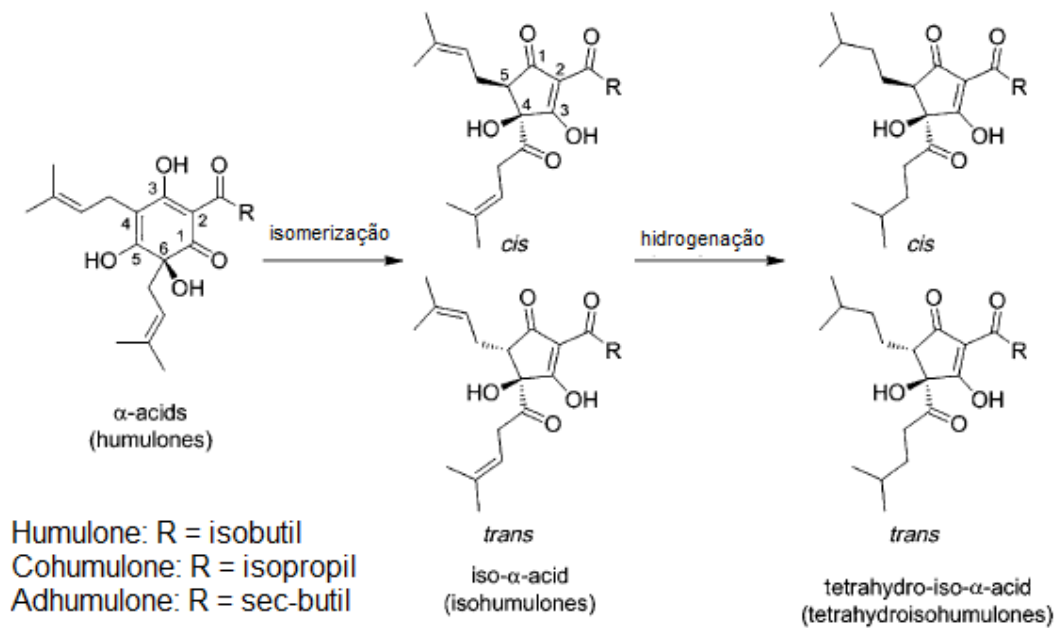
É desejável que no malte de cevada sejam encontrados altos níveis de amido associados a uma baixa concentração de proteína, e o endosperma da cevada deve ser bem modificado. A modificação do endosperma é caracterizada pela quebra de natureza física da  $\beta$ -glucana presente nas paredes celulares e na matriz protéica, e está entre os grânulos de amido e a parede celular. Estas paredes devem ser degradadas para permitir que as enzimas que atuam na hidrólise do amido tenham acesso aos grânulos e possam catalisar a hidrólise do amido em açúcares para o mosto cervejeiro (EDNEY et al., 2012).

### 3.3.3 Lúpulo (*Humulus lupulus L.*)

O lúpulo (*Humulus lupulus L.*) é uma trepadeira perene e suas flores em formato cônico apresentam dois compostos significantes, as resinas amargas e óleos essenciais, que conferem amargor, sabor e aroma à cerveja, além de ser um conservante natural (HYERONIMUS, 2012).

As resinas, também chamadas de  $\alpha$ -ácidos (humulone, cohumulone e adhumulone), são isomerizadas (Figura 01) durante a fervura e transformadas em iso- $\alpha$ -ácidos, conferindo assim o sabor amargo que contribui para a palatabilidade na bebida (SCHÖNBERGER e KOSTELECKY, 2011).

**Figura 01** - Reação de isomerização dos  $\alpha$ -ácidos.



**Fonte:** Urban et al.(2013)

Segundo Vriesekoop et al (2012), as resinas também contêm  $\beta$ -ácidos (lupulone), porém, estes são pouco solúveis no mosto. Essas resinas apresentam atividade antimicrobiana e atuam na ruptura da membrana celular, que leva à inibição do transporte ativo de açúcares e aminoácidos através dessa, onde a respiração e a síntese de proteínas do DNA e RNA são interrompidas. Os ácidos do lúpulo, que conferem sabor amargo, agem como carreadores ionóforos, que transpõem a barreira da membrana e causam a diminuição do pH interno, levando a inibição do transporte de nutrientes e causando a morte celular por inanição.

Já os óleos essenciais do lúpulo são responsáveis pelo sabor e aroma na bebida, e há mais de cem tipos diferentes destes compostos. Eles se dividem em hidrocarbonetos, como monoterpenos, sesquiterpenos e hidrocarbonetos alifáticos e compostos oxigenados, como linalool, geraniol, humulenol, alcoóis, cetonas e ésteres (SCHÖNBERGER; KOSTELECKY, 2011).

A adição de lúpulo no processo de produção é feita durante a etapa de fervura. Quanto mais cedo adicionado nesta, mais irá isomerizar e gerar o amargor na bebida. Quando adicionado nos minutos finais do processo, o lúpulo solubiliza os seus óleos que conferem o sabor e o aroma na cerveja. Ainda, se

o lúpulo for adicionado também, na etapa de maturação, irá conferir um aroma mais pronunciado na bebida. Este método é comumente conhecido como *dry hopping* (HYERONIMUS, 2012).

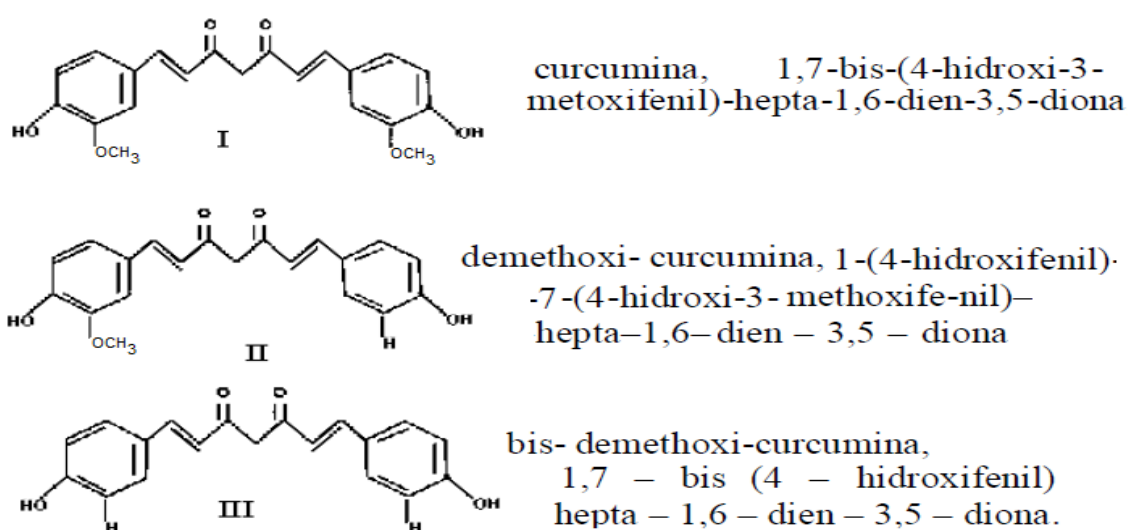
### 3.4 ESPECIARIAS

#### 3.4.1 Açafrão da terra (*Curcuma longa* L.)

A cúrcuma longa é um rizoma, e esta planta herbácea é conhecida como açafrão da terra. Os rizomas tuberosos do açafrão têm sido utilizados desde a antiguidade como condimento, corante e estimulante aromático em vários medicamentos. A especiaria é muito importante na Índia e no Sudeste Asiático, onde é amplamente cultivada (NGUYEN et al., 2013).

Segundo Al-Sutan (2003), o extrato do rizoma tem atividade antioxidante, antifúngica, antimicrobiana, imunomoduladora e antimutagênica. É crescente a utilização da cúrcuma nos mercados de perfumaria, medicinal, têxtil, condimentar e alimentício. Nguyen et al., (2013), relata que o interesse maior na planta é atribuído ao composto fenólico conhecido como curcumina (Figura 02). Este pigmento encontra-se presente no açafrão da terra, na proporção de 3 a 6%, e é o responsável pelos efeitos anti-inflamatório, anticarcinogênico e hiperglicêmico.

**Figura 02** - Representação estrutural dos curcuminóides.



**Fonte:** Cecilho Filho et al, 2000.

O pigmento é instável em pH maior que 7, acima deste valor a sua velocidade de degradação aumenta significativamente, sendo a sua faixa de estabilidade entre 4 até 7. Ela apresenta estabilidade térmica até temperaturas de 100 °C, ocorrendo degradação da mesma em temperaturas maiores que 125 °C. O fator que aumenta a taxa de degradação do pigmento é a exposição à luz e a presença de oxigênio (CECILHO FILHO et al., 2000).

Além dos cúrcuminóides, o rizoma contém também óleos essenciais de características sensoriais únicas que atingem concentrações variáveis de 2,5 a 5,0%, e tem como composto principal a turmerona (CECILHO FILHO et al., 2000).

#### 3.4.2 Pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.)

A pimenta-do-reino, ou pimenta preta, é produzida junto com a pimenta branca a partir das bagas não amadurecidas do arbusto *Piper nigrum* L. Após secagem ao sol, as bagas verdes ficam escuras e tornam-se a pimenta-do-reino. A especiaria é muito apreciada pelo seu aroma característico, bem como a pungência picante típica e o formigamento na impressão sensorial (DAWID et al., 2012).

As oleorresinas da pimenta podem ser extraídas via solvente alcoólico da pimenta em pó, e apresentam tanto as características aromáticas como os princípios de pungência no sabor, e são constituídos pelos óleos voláteis, principalmente o alcalóide piperina, e outros componentes voláteis. Outros constituintes dos óleos voláteis são  $\alpha$ - e  $\beta$ -pineno, sabinene, limoneno,  $\delta$ -careen,  $\alpha$ -felandreno, e  $\beta$ -cariofileno. No entanto, as oleorresinas da especiaria apresentam moderada sensibilidade à luz, calor e oxigênio, baixa solubilidade em água, e têm baixa vida de prateleira caso não seja armazenado da forma correta (TEIXEIRA et al., 2013).

Algumas alterações químicas e sensoriais também podem ocorrer na oleorresina durante o armazenamento prolongado. A destruição de vários pigmentos ocorre sob exposição ao oxigênio, nos quais os grupos hidroxílicos são convertidos em cetonas instáveis. Estes por sua vez, decompõem-se em compostos incolores com uma cadeia carbônica mais curta (SHAIKH; BHOSALE; SINGHAL, 2006). Segundo Nikolić et al. (2015), as oleorresinas em

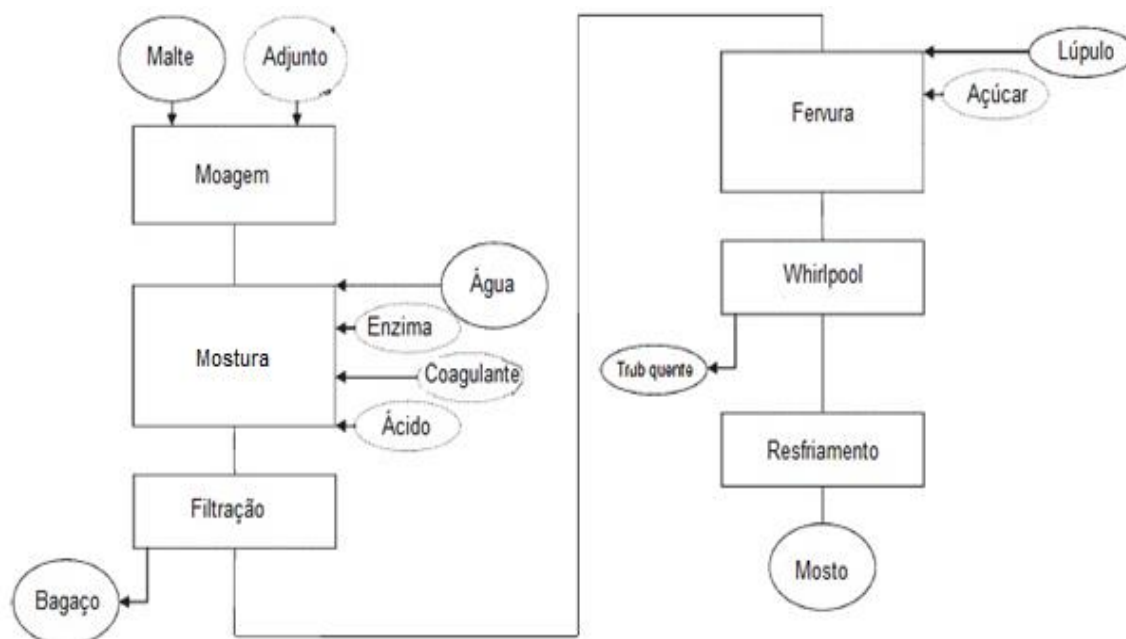
matrizes alimentares inibem significativamente o crescimento de microorganismos deteriorantes e agem como sequestrantes de radicais livres.

Segundo estudos investigativos sobre atividade antiadipogênica, ela também é uma especiaria utilizada por mais de centenas de anos na medicina oriental. O seu composto principal, a piperina, também tem sido relatada na redução do acúmulo de triglicérides no fígado e níveis de glicose e de lipídeos no sangue, diminuindo assim a pressão sanguínea. Ela apresenta atividade antioxidante, antitumoral e anti-inflamatória. Sabe-se que a piperina, co administrada com a curcumina, aumenta significativamente a biodisponibilidade da curcumina por via oral, no entanto, outros mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos da piperina permanecem desconhecidos (JIN e HAN, 2010; PARK et al., 2012).

### 3.5 PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CERVEJA

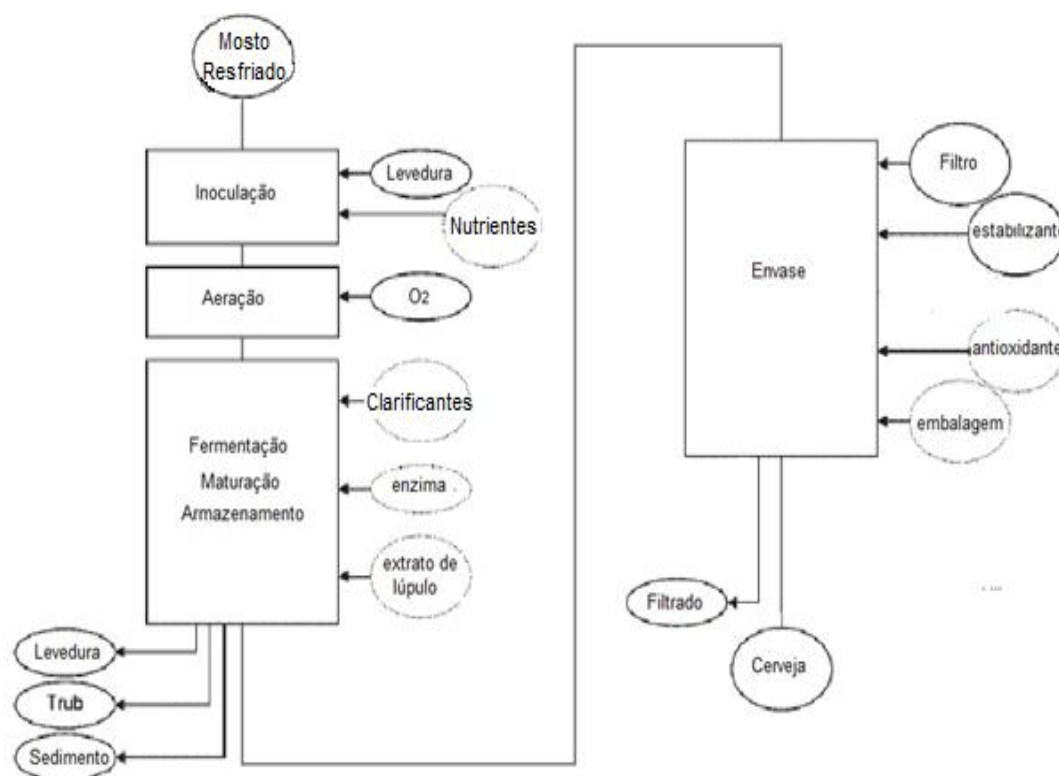
O processo de obtenção de cerveja se divide em duas partes: a etapa quente, na qual se emprega calor para a obtenção do mosto cervejeiro e a etapa fria, onde ocorre a utilização de temperaturas mais baixas para que o mosto seja transformado em cerveja. O esquema destas é representado nas Figuras 03 e 04:

**Figura 03** - Fluxograma do processo de produção de mosto, etapa quente.



**Fonte:** Eßlinger, 2009.

**Figura 04** - Fluxograma do processo de produção de cerveja, etapa fria.



**Fonte:** EBLINGER, 2009.

### 3.5.1 Moagem

A moagem é de suma importância para expor o interior dos grãos maltados ou dos cereais, tanto quanto possível para fora do endosperma, visando assim facilitar os processos subsequentes de produção. Por outro lado, as cascas devem ser mantidas intactas com o objetivo de obter bagaço permeável que atue como elemento filtrante (SZWAJGIER; BOROWIEC, 2012). Caso ocorra uma excessiva moagem, os poros do filtro do bagaço irão entupir rapidamente durante a recirculação no decorrer da produção da cerveja, devido à redução da permeabilidade e diminuição da porosidade. Se a moagem for ineficiente, ocorrerão perdas de rendimento (KUNZE, 1999).

Moinhos de martelo e de rolo são empregados na maioria das vezes, e os processos mais utilizados são aqueles em que o malte seco é moído por pares de rolos contra-rotativos (SZWAJGIER, 2011).

### 3.5.2 Mostura

Mostura é a solubilização em água dos componentes do malte de cevada e ela se dá por atuação de enzimas e processos físico-químicos, como agitação e ajustes na temperatura. O amido, as proteínas e substâncias de parede celular são as mais importantes classes de substâncias para malteação, que são dissolvidos por meio de hidrólise. Além disso, durante essa etapa, o fosfato orgânico é transformado em fosfatos primários por fosfatases (fosforólise), isso faz com que a capacidade de tamponamento do mosto aumente, e também pode influenciar na queda do pH durante a fermentação. Os lipídeos são decompostos por auto-oxidação e por ação enzimática. Polifenóis passam por processos de oxidação, polimerização e resultam na diminuição de agentes antioxidantes e, conseqüentemente, ocorre redução da estabilidade do sabor. (EßLINGER, 2009).

O malte utilizado afeta significativamente a cor e o aroma da cerveja devido as transformações sofridas pelas cascas e porções amiláceas no processo de malteação, além de enriquecer o mosto de compostos nitrogenados com baixo peso molecular e ainda, possibilita a introdução de compostos adicionais para a reação de Maillard (GUPTA; ABU-GAHNNAN; GALLAGHER, 2010).

De acordo com Meilgaard (2001), o equipamento da cervejaria e os aspectos da mostura, como a taxa de aquecimento e velocidade de agitação, influenciam no processo global de obtenção de mosto. Uma alta taxa de aquecimento é necessária para a ativação e inibição de certas reações enzimáticas. Uma alternativa ao fornecimento direto de calor é ajustar a temperatura durante a mostura com a adição de água quente. A velocidade de agitação é importante para a homogeneização da mistura durante o aquecimento, pois as enzimas devem ter uma boa atuação, e a introdução de oxigênio durante a mostura deve ser baixa para evitar a oxidação de compostos responsáveis por sabor e aroma.

O processo de mostura pode ser dividido em dois métodos: infusão e decocção. A decocção ocorre quando uma alíquota da mistura do processo é fervida em separado e depois retorna na mostura com o objetivo de uma inativação enzimática, por decomposição térmica. Tem de ser levado em conta

que, durante a transferência parcial do mosto, há uma introdução de oxigênio adicional na etapa de fervura, e ocorre um estresse mecânico das cascas e colóides. Na infusão, a mistura do malte com a água sofre um aquecimento direto, acarretando durante o processo num aumento da carga térmica e precipitação de proteínas (EßLINGER, 2009).

No método de infusão a atividade das fosfatases é inibida e acarreta em uma menor capacidade de tamponamento, o que leva a uma queda de pH mais acentuada durante a fermentação, e como consequência tem-se uma cor mais clara e uma maior estabilidade coloidal. Além disso, a atividade proteolítica é reduzida, e as proteínas de peso molecular elevado, que possuem uma influência positiva sobre a espuma, não são subdivididas. No entanto, ele precisa ser assegurado que o malte utilizado propicia a concentração necessária de nitrogênio e aminas livres (KÜHBECK et al., 2005;).

Segundo Eßlinger (2009), a principal tarefa da mostura é a quebra do amido em açúcar fermentável. O amido, composto de 55 - 65% do peso seco, é o principal constituinte da cevada. O amido da cevada é normalmente composto por 20 a 30% de amilases, e 70 a 80% de amilopectina. A propriedade mais importante do amido para fabricação de cerveja é a gelatinização, caracterizada pelo inchaço induzido do amido pela sorção de água e a perda irreversível da estrutura cristalina.

A GT(?) é de grande importância, pois a maior parte dos grânulos de amido do malte estão presentes na forma nativa e são hidrolisados a temperaturas acima do GT. A degradação do amido durante a mostura é, portanto, influenciada pela atividade das enzimas amilolíticas. A gelatinização rápida e uma elevada atividade amilolítica garantem uma sacarificação rápida e um elevado grau de atenuação (KÜHBECK et al., 2005; STEINER et al., 2011).

O poder diastático é a capacidade de degradação do amido depois de gelatinizado, e as enzimas responsáveis por essa capacidade são as amilases. A  $\beta$ -amilase quebra em maltose a partir da extremidade não redutora da molécula de amido e, assim, é significativamente responsável pelo grau de atenuação do mosto. Ela é uma enzima termolábil que é 60% inativada depois de 10 minutos a 65 °C, sendo sua temperatura ótima durante a rampa de 62°C, onde ocorre o aumento da concentração de maltose, após 20 min. Usando a 'viscosidade aparente' como parâmetro, a inativação pode ser retardada devido

à termoestabilidade da  $\beta$ -amilase na presença de proteínas. Uma baixa viscosidade conduz a uma inativação lenta. Um descanso a 60 °C, de fato, leva a uma inativação mais lenta, mas a vulnerabilidade reduzida do amido também leva a uma quebra mais lenta (ENARI, 1995; WEI et al, 2009)

De acordo com Enari (1995) e Buckow et al. (2006), apenas a  $\alpha$ -amilase é capaz de atacar os grãos de amido. A  $\alpha$ -amilase é mais termoestável e tem uma ação de 30% após 10 min a 80 °C. Como uma endoenzima, aumenta a fração de extremidades não redutoras e proporciona o substrato para  $\beta$ -amilase. Este efeito sinérgico é mais elevado entre  $\alpha$  e  $\beta$  amilase quando a gelatinização dos grãos de amido é suficiente para que se tenha uma alta acessibilidade para as amilases e tempo suficiente para as suas atividades.

Todas as enzimas presentes no malte de cevada encontram-se detalhadas na Tabela 01.

**Tabela 01** - Enzimas e suas atividades ótimas na mostura do malte de cevada

Tipo	Enzima	Temperatura ótima na mostura (°C)	pH ótimo na mostura	Substrato	Produto
<b>Citolase</b>	$\beta$ – glucanasolubilase	62-65	6,8	$\beta$ -glucanasolubilase	$\beta$ -glucana solúvel de alto peso molecular
	Endo - 1–3 - $\beta$ -glucanase	< 60	4,6	$\beta$ -glucana solúvel de alto peso molecular	$\beta$ -glucana solúvel de baixo peso molecular, cellobiose e laminaribiose
	Endo - 1–4 - $\beta$ -glucanase	40-45	4,5-4,8	$\beta$ -glucana solúvel de alto peso molecular	$\beta$ -glucana solúvel de baixo peso molecular, cellobiose e laminaribiose
	Exo - $\beta$ – glucanase	<40	4,5	Celobiose e laminaribiose	Glicose
<b>Protease</b>	Endopeptidase	45-50	3,9-5,5	Proteínas	Peptídeos, e amino ácidos livres

	Carboxipeptidase	50	4,8-4,6	Proteínas e peptídeos	Amino ácidos livres
	Aminopeptidase	45	7,0-7,2	Proteínas e peptídeos	Amino ácidos livres
<b>Amilase</b>	$\alpha$ – amilase	65-75	5,6-5,8	$\alpha$ -glucanas de alto e baixo peso molecular	Megalosacarídeos e oligosacarídeos
	$\beta$ – amilase	60-65	5,4-5,6	$\alpha$ -glucanas	Maltose
	Limite dextrinase	55-65	5,1	Dextrina limite	Dextrina
<b>Outras</b>	Lípase	55-65	6,8-7,0	Lipídeos e hidroperóxidos	Ácidos graxos de cadeia longa livres de glicerina, ácidos graxos e hidroperóxidos
	Polifenol oxidase	60-65	6,5-7,0	Polifenóis	Polifenóis oxidados
	Peroxidase	>60	6,2	Substratos orgânicos e inorgânicos	Radicais livres

**Fonte:** Eßlinger, 2009.

### 3.5.3 Filtração

Filtração é uma separação sólido-líquido, com o objetivo de separar os compostos do malte dissolvidos durante a mostura das partes insolúveis como, por exemplo, a casca. Nessa etapa é necessário recircular o mosto sobre a cama de malte formada para clarificação e, posteriormente, lavá-lo para obtenção do mosto pré-fervura (KUNZE, 1999).

A aeração do mosto deve ser evitada durante o processo. O mosto deve permanecer homogêneo durante o processo, de modo que o bagaço forme uma camada espessa como elemento filtrante. Finalmente, o mosto que escorre deve ser tão claro quanto possível, de modo que não tenha mais partículas que possam reagir durante a sua fervura, e que apenas uma pequena quantidade de ácidos graxos de cadeia longa, que destroem a espuma, possa entrar na tina de fervura (MEILGAARD, 2001).

Devido as  $\beta$ -glucanas e arabinosilanos, que são os principais polissacarídeos não amiláceos, a água de lavagem deve ter uma temperatura máxima de 78 °C, para que esses não formem fibras e gomas que causem problemas no processo. A fim de evitar caminhos preferenciais, isto deve ser feito de maneira uniforme (SZWAJGIER, 2011).

#### 3.5.4 Fervura

Os passos necessários da fervura do mosto podem ser divididos em dois processos: acúmulo de calor e evaporação. Segundo Miedaner (1986) e Meilgaard (2001), durante o acúmulo de calor ocorrem diferentes reações químicas, entre elas o desenvolvimento de substâncias de aroma e cor, isomerização dos componentes do lúpulo, a inativação das enzimas e a esterilização do mosto. Além disso, durante a fervura, as proteínas e taninos precisam ser eliminados para obter o mosto clarificado. Se a coagulação da proteína é muito forte, as de elevado peso molecular serão precipitadas, comprometendo a estabilidade da espuma. Coagulação insuficiente de proteína leva a cervejas com instabilidade coloidal, e segundo Bamforth (2011) é composta pela interação dela com outros compostos como amido, pentosanas, ácido oxálico e, principalmente polifenóis, ocasionando problemas de turbidez.

Segundo Miedaner (1986), a coagulação de proteína ocorre durante a fervura, sendo este processo dependente do pH do meio e do tempo e temperatura do processo. O pH ótimo encontra-se abaixo de 5,2 para a coagulação da proteína e pode ser conseguida por acidificação do mosto. A concentração de nitrogênio coagulável no mosto resfriado tem efeito sobre a estabilidade coloidal, espuma da cerveja, sabor e paladar. Valores de nitrogênio coagulável ideal situam-se na faixa de 15 a 25 mg/L.

As reações de Maillard que ocorrem durante a fervura têm como finalidade, através da reação com os aldeídos de Strecker, gerar substâncias de aroma, desenvolvidas a partir de aminoácidos que influenciam na estabilidade do sabor da cerveja. Os produtos dessa reação podem ser reduzidos dependendo da intensidade e duração do processo (WIETSTOCK et al., 2010).

A evaporação serve para ajustar o extrato primitivo, para garantir a padronização do produto e estabilidade para comercialização da cerveja, e

remover substâncias com aroma indesejável, como mirceno do lúpulo e diferentes carbonilas, bem como substâncias que contêm enxofre, em especial sulfato de dimetila (DMS). Substâncias de aroma a partir do metabolismo de lipídeos, também são reduzidas por evaporação durante a fervura do mosto. Algumas destas substâncias podem ser utilizadas como um indicador analítico da eficiência da fervura uma vez que estas não são transformadas durante o processo (HERRMANN et al., 2010; MIEDANER, 1986).

Em sistemas de fervura com caldeira interna ou externa, o acúmulo de calor e a evaporação prosseguem simultaneamente. Após a fase de fervura, a separação *trub* quente ocorre por turbilhonamento (*whirlpool*), que consiste no princípio de que as forças centrípetas farão com que as partículas sólidas em suspensão no líquido migrem para o centro do fundo do recipiente através de rotação. O *trub*, um sedimento contendo fragmentos de lúpulo e partículas à base de proteínas sólidas, deve ser removido do mosto antes de ser refrigerado e enviado para a fase de fermentação (OLIVER, 2012).

Durante o pré-resfriamento do mosto sua temperatura passa de 98-99 °C para valores inferiores a 90 °C, antes da separação do *trub* quente, por meio de um trocador de calor ou um evaporador flash. Com o mosto pré-resfriado, a carga térmica do mesmo é reduzida, tendo um efeito positivo sobre a estabilidade do sabor, pois resulta em um menor desenvolvimento de DMS livre pela da substância precursora S-metilmationina. O precursor de DMS é transformado em DMS livre durante a fervura do mosto e deve estar presente em concentrações abaixo de 100 µg/L. Dependendo da matriz da cerveja, as concentrações no mosto inicial acima de 150 µg/L por vezes podem resultar em um efeito negativo no sabor, semelhante a vegetais (EßLINGER, 2009).

### 3.5.5 Fermentação

Inocular a levedura no mosto resfriado é uma das principais etapas na fabricação de cerveja. A fermentação significa a metabolização de substratos em produtos pela atividade de micro-organismos. Nesse caso, a levedura transforma os açúcares em etanol e gás carbônico e, durante esta etapa, também há a formação de subprodutos da fermentação que tem um efeito considerável sobre os perfis de aroma e sabor da cerveja (LIMA et al., 2011).

As leveduras cervejeiras são principalmente de dois tipos, chamados fermentação de topo ou alta (*Saccharomyces cerevisiae*) e as de fundo ou baixa fermentação (*Saccharomyces uvarum var. carlsbergensis* e *Saccharomyces bayanus*). As leveduras *Saccharomyces* são anaeróbios facultativos, o que significa que eles podem ajustar seu metabolismo de aeróbico para anaeróbico de acordo com suas condições (COCOLIN et al., 2011).

O processo de fermentação é iniciado pela adição de levedura em suspensão concentrada, correspondendo de 1 a 100 milhões de células viáveis por mililitro do mosto frio, oxigenado e estéril. Quanto mais concentrado for o mosto, é necessário inocular uma quantidade maior do microorganismo para obter uma boa taxa de fermentação e atenuação (ERTEN; TANGULER; CAKROZ, 2007).

Durante essa etapa a levedura aumenta a sua massa consideravelmente devido a sua multiplicação, consumindo o substrato composto de aminoácidos, que provém do mosto, ou é sintetizado pela própria célula. As proteínas e lipídeos são sintetizados pela propagação da levedura e são componentes importantes da parede celular, pois também são necessários para a absorção de nutrientes. A carga requerida de lipídeos provém do oxigênio molecular necessário para a síntese a partir da acetil-coenzima A e do próprio mosto cervejeiro. As leveduras também requerem minerais para a estabilização de seus sistemas enzimáticos (WHITE, 2010).

Além da concentração de células viáveis, uma fermentação satisfatória depende do oxigênio dissolvido em concentração suficiente para as leveduras, e de 5 a 10 mg/L de mosto é o ideal para alcançar a estabilidade no sabor. Isto é feito por aeração de ar estéril ou com oxigênio puro no mosto (STEWART, 2009).

Durante a fermentação a cerveja jovem passa por diversas fases que se diferenciam pelo aspecto visual. Na primeira etapa, o mosto fica coberto por uma fina camada branca de espuma e em seguida, as bolhas finas de espuma tornam-se mais resistentes e de cor marrom. Na fase seguinte de alto *kräusen*<sup>1</sup>, a fermentação entra em sua parte mais intensa e os cachos e cristas do *kräusen* tornam-se mais elevados e as bolhas de CO<sub>2</sub> maiores, e ao final da fermentação

---

<sup>1</sup> Espuma formada pelas leveduras no início da fermentação.

o *kräusen* cai lentamente e uma camada de cor castanha fina é formada (EßLINGER, 2009).

#### 3.5.5.1 Formação de compostos durante a fermentação

As substâncias dissolvidas no mosto servem de substrato e são fermentados principalmente em etanol e gás carbônico pelo metabolismo da levedura, esta via metabólica é exotérmica e é chamada glicólise. A levedura hidrolisa primeiramente as hexoses e a sacarose, em seguida, a maltose, que é o açúcar principal da fermentação, e posteriormente a maltotriose. O glicerol, um álcool polivalente, é formado durante a glicólise, onde sua concentração varia entre 1300-2000 mg/L, dependendo da quantidade de açúcares fermentados, e é proporcional a densidade do mosto (PIRES et al., 2014; COCOLIN et al., 2011; EßLINGER, 2009).

De acordo com Brányik et al. (2008), os subprodutos da fermentação são formados por vias metabólicas secundárias e elas podem ser caracterizadas em grupos, como alcoóis alifáticos superiores e aromáticos, alcoóis multivalentes, ésteres, cetonas, aldeídos, ácidos orgânicos e compostos sulfurados.

A intensidade e velocidade de formação dos ácidos são determinadas pela capacidade de tamponamento do mosto, a quantidade de nitrogênio e aminas livres, a linhagem e o método de fermentação. Dessa forma, o pH tem uma influência direta sobre a estabilidade no aroma e na espuma da cerveja. Durante a fermentação, o pH diminui uma unidade por causa de ácidos orgânicos voláteis (acético, fórmico) e não voláteis (ácido pirúvico, ácido málico, cítrico, láctico) que são formados a partir da desaminação de aminoácidos. O pH final da cerveja vai desde 4,3 a 4,6 (STEWART; HILL; RUSSELL, 2013; WHITE, 2010).

Os compostos resultantes da fermentação têm diferentes parâmetros de sabor e odor. A combinação destes pode contribuir positivamente ou negativamente no aroma da cerveja, assim como as quantidades produzidas podem sofrer influência da tecnologia empregada de fabricação de cerveja. Ácidos graxos de cadeia curta são formados no início do processo de fermentação principal: butírico, isovalérico, hexanóico, octanóico e decanóico. Seus valores podem ser controlados pela composição do mosto, aeração,

linhagem de levedura e condições gerais da fermentação (NEDOVIĆ et al., 2015; STEWART; HILL; RUSSELL, 2013).

Os alcoóis alifáticos superiores (1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol) e os alcoóis aromáticos (especialmente 2-fenil-1-etanol) representam a maior parte dos compostos responsáveis pelo aroma da cerveja. Eles são formados durante os primeiros 2 a 3 dias de fermentação, e posteriormente ocorre um aumento pouco significativo. Em concentrações superiores a 100 mg/L, no entanto, esses podem afetar negativamente a qualidade e o sabor da cerveja. Os seus níveis podem ser controlados pela medida do teor de FAN, concentração do mosto, taxa de inoculação e a linhagem utilizada, mas principalmente pela temperatura de inoculação e fermentação. A formação de álcoois superiores é reduzida por temperaturas frias de inoculação e fermentação (EßLINGER, 2009).

A cerveja contém mais de 50 ésteres diferentes, e devido aos seus baixos valores limites eles influenciam fortemente as propriedades sensoriais da cerveja. Os ésteres são os produtos da catálise enzimática de ácidos orgânicos e alcoóis, principalmente o etanol, e também os superiores. A sua formação está intimamente relacionada com a propagação de levedura e o metabolismo lipídico (NEDOVIĆ et al., 2015).

O acetato de etila contribui para o sabor e aroma global de cerveja, dá característica de “frutado” a uma bebida que raramente contém qualquer fruto. Conforme o acetato de etila intensifica, a percepção aromática pode distorcer de agradável e “frutado” para “solvente” e “perfume”. Níveis anormalmente elevados são, portanto, considerado como aromas indesejáveis.

Na sua concentração limite (em torno de 0,6 a 1,2 partes por milhão), o acetato de isoamila fornece um pronunciado aroma de banana e frutas frescas. É amplamente utilizado para reproduzir o aroma de banana como flavorizante artificial. Tal como acontece com outros ésteres, é produzido pela levedura durante a fermentação e tem um importante impacto no sabor de determinados estilos de cerveja, particularmente cervejas de trigo de estilo bávaro. Em geral, contribui para a qualidade frutada da cerveja.

Como os outros ésteres, o acetato de isobutila tem um aroma frutado ou floral em baixas concentrações, e ocorrem naturalmente em framboesas, peras e outras plantas. Em concentrações mais elevadas o odor pode ser desagradável

e também é produto da fermentação. O acetato de 2-fenil etila, ou  $\beta$ -fenilacetato, é um produto de fermentação das células de levedura e é responsável por um sabor frutado e floral.

O caproato de etila, também conhecido como hexanoato de etila, é um éster volátil encontrado em bebidas alcoólicas e produzido durante a fermentação por leveduras. É responsável por aromas frutados e florais, por exemplo, abacaxi, amora, casca de maçã e morango. Já o caprilato de etila, ou octanoato de etila, contribui para o sabor e aroma da cerveja e pode ser descrito como frutado, floral, banana, abacaxi ou até mesmo licor no seu estado puro. Ele tende a acompanhar o desenvolvimento do sabor de fermento que pode ou não ser desejável, dependendo das concentrações e do estilo de cerveja.

Segundo Eßlinger (2009) cervejas com fermentação de fundo podem conter até 60 mg ésteres/L e, com alta fermentação de até 80 mg ésteres/L. A produção pode ser aumentada pelo aumento da densidade original acima de 13%, restrição de aeração do mosto, temperaturas de fermentação mais elevadas e movimentação da bebida durante as etapas de fermentação e maturação.

A pressão do ar durante a fermentação diminui a formação de ésteres do mesmo modo como os alcoóis superiores. Alcoóis superiores e ésteres em concentrações específicas são necessários para o perfil de aroma da cerveja. Uma vez formados, eles ficam na cerveja e não são removidos em etapas posteriores da fermentação (NEDOVIĆ et al., 2015).

Compostos voláteis de enxofre como o sulfeto de hidrogênio, sulfato de dimetila (DMS), 3-tiometil-1-propanol e tióis não são desejáveis na cerveja devido ao seu forte odor e sabor de vegetais, mesmo em concentrações muito baixas. Além da remoção eficiente do *trub*, o fator mais importante na formação e redução destas substâncias ativas e aromas são a linhagem de levedura e a ausência de contaminações. Os mercaptanos são tioálcoois, compostos em que o grupo hidroxila do álcool é substituído por um grupo sulfurado. Eles podem prejudicar fortemente o aroma da cerveja e também são responsáveis por aromas indesejados na cerveja (KROGUERUS; GIBSON, 2013; EßLINGER, 2009).

Segundo Nedović et al. (2015) e Brányik et al. (2008), os aldeídos e cetonas são responsáveis pelo aroma da cerveja jovem e rançoso. O acetaldeído

é formado na cerveja jovem durante os primeiros dias de fermentação e confere a cerveja um gosto desequilibrado de maçã verde. Porém desaparece nos estágios finais da fermentação, não apresentando dificuldades. O valor inicial do teor de acetaldeído é de cerca de 20 – 40 mg/L, e na cerveja acabada de 8 a 10 mg/L.

Os sabores indesejados na cerveja são causados por níveis elevados de dicetonas vicinais, diacetil e 2,3-pentandiona. Eles dão um desagradável odor e sabor de ranço, queijo e manteiga para a cerveja. A concentração de diacetil depende do tipo de cerveja e gira em torno de 0,08-0,2 mg/L, para 2,3-pentandiona, próximo de 0,5-0,6 mg/L. As dicetonas vicinais são transferidas para os alcoóis polivalentes correspondentes e eles são indicadores da etapa de maturação. Além da formação de subprodutos, certo número de outras reações e mudanças ocorrem durante a fermentação (NEDOVIĆ et al., 2015; BRÁNYIK et al., 2008)

A levedura converte os compostos nitrogenados do mosto para sintetizar as suas próprias substâncias celulares. O teor de nitrogênio e amina livre é reduzido de 200-250 mg/L para 100-120 mg/L. Polipeptídios de alto peso molecular se tornam insolúveis e são mais tarde filtrados da cerveja. O pH diminui de um valor de 5,4-5,6 (acidificação biológica<sup>2</sup> do mosto 5,2-5,0) para um valor de 4,3-4,6 e, em seguida, mantém-se constante (BAMFORTH, 2003). Os valores de pH mais baixos, por exemplo, abaixo de 4,2, devem ser evitados, porque eles prejudicam o sabor da cerveja, tornando-a ácida. Um aumento no pH após a fermentação indica autólise da levedura (STEWART; HILL; RUSSELL, 2013).

A fermentação rápida é vantajosa para a precipitação de complexos de proteína e polifenóis, a cerveja madura mais rapidamente, pode ser filtrada sem problemas e tem uma excelente estabilidade não biológica<sup>3</sup> (PIRES et al., 2015).

A propriedade redox indica a relação entre o poder de redução e de oxidação em solução. O aumento do potencial de redução é estreitamente relacionado com a captação de oxigênio dissolvido pela levedura no início da fermentação. O oxigênio do mosto aerado é absorvido pelas leveduras algumas

---

<sup>2</sup> Se dá no processo de fermentação no qual o pH do mosto é reduzido devido as rotas metabólicas da levedura.

<sup>3</sup> Estabilidade coloidal, ou seja, estabilidade que ocorre sem a influência de microorganismos.

horas após ser inoculado e, em seguida, atinge valores próximos de zero mg de  $O_2/L$  de cerveja (WU, ROGERS e CLARKE, 2012).

Como um resultado adicional do decaimento do pH, um número de substâncias coloidais amargas dissolvidas e polifenóis atingem seu ponto isoelétrico e em seguida precipitam. O resto dos  $\alpha$ -ácidos não isomerizados e alguns isohumulones são capturados a partir das bolhas de  $CO_2$  ascendentes e levados para fora da espuma. A perda de substâncias amargas varia de 25% a 40% durante a fermentação (WHITE, 2010).

De acordo com o teor de  $CO_2$  desejado, a cerveja em fermentação é enriquecida com o produto e o conteúdo pode variar de 4,3-5,5 g  $CO_2/L$  em cervejas de baixa fermentação, e a 6-10 g  $CO_2/L$  para as de alta fermentação. A solubilidade do  $CO_2$  na cerveja depende das condições de temperatura e pressão no momento da fermentação. (NEDOVIĆ et al., 2015; WHITE, 2010).

### 3.5.6 Maturação e Armazenamento

A concentração total de diacetil é utilizada para julgar a maturidade da cerveja fermentada e deve ser diminuída para não prejudicar o aroma. O precursor do diacetil, 2-acetolactato também é chamado de “diacetil potencial”, porque transforma em diacetil livre apenas nas cervejas filtradas e livres de levedura (PIRES et al., 2015; KROGUERUS; GIBSON, 2013).

O diacetil é formado durante a síntese de valina. Este passo é dependente da temperatura, é catalisado por enzimas das leveduras, ocorre lentamente e abaixo de 10 °C. O diacetil está presente em quantidades muito pequenas na cerveja jovem, porque sua redução a acetoína é muito mais rápida do que a sua formação. As bactérias, que podem ocorrer na cervejaria como contaminantes, também são suscetíveis em promover a formação de diacetil (PIRES et al., 2015; KROGUERUS; GIBSON, 2013).

O processo de maturação melhora a filtragem e a estabilidade coloidal da cerveja. A contagem de células de levedura deve ser inferior a  $2 \times 10^6$  células/mL, após o acondicionamento da cerveja (WHITE, 2010).

A cerveja deve atingir o nível de  $CO_2$  desejado durante a fase de armazenamento a frio (até 4,8 g/L para barril, 5,0 g/L de cerveja em lata e até 0,55 g/L para garrafas de vidro). Isto pode ser alcançado por um processo convencional, aplicando na cerveja uma pressão de 0,2 – 0,6 bar, e depende

também da pressão hidrostática e da temperatura. Cervejas produzidas com maturação acima da temperatura ambiente requerem maior pressão ou CO<sub>2</sub> a ser adicionado durante a transferência para os tanques de armazenagem. Durante o armazenamento, a cerveja deve clarear, as leveduras e outros compostos que causam turvamento devem sedimentar. Para atingir os requisitos de aroma e sabor, a cerveja tem de ser armazenada entre 0 a -2 °C, durante uma a duas semanas. Frequentemente a fermentação, maturação e armazenagem acontecem no mesmo tanque (EßLINGER, 2009).

### 3.5.7 Envase

De acordo com Kunze (1999), no processo de envase deve-se levar em consideração o equipamento e o recipiente escolhido. Existem quatro categorias principais de embalagens em uso em todo o mundo, e eles são as garrafas de vidro, latas de alumínio ou folha de flandres, as garrafas de plástico feitas de tereftalato de polietileno (PET) e polietileno naftalato (PEN), e barris de inox. Os fatores importantes para avaliar se os materiais de embalagem são adequados para a cerveja são a proteção da luz, propriedades de barreira para impedir a fuga de CO<sub>2</sub> ou a entrada de oxigênio, impedir a transferência de massa entre o material de embalagem e o produto, e a capacidade de suportar tensões e choques mecânicos.

## 3.6 COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NA CERVEJA

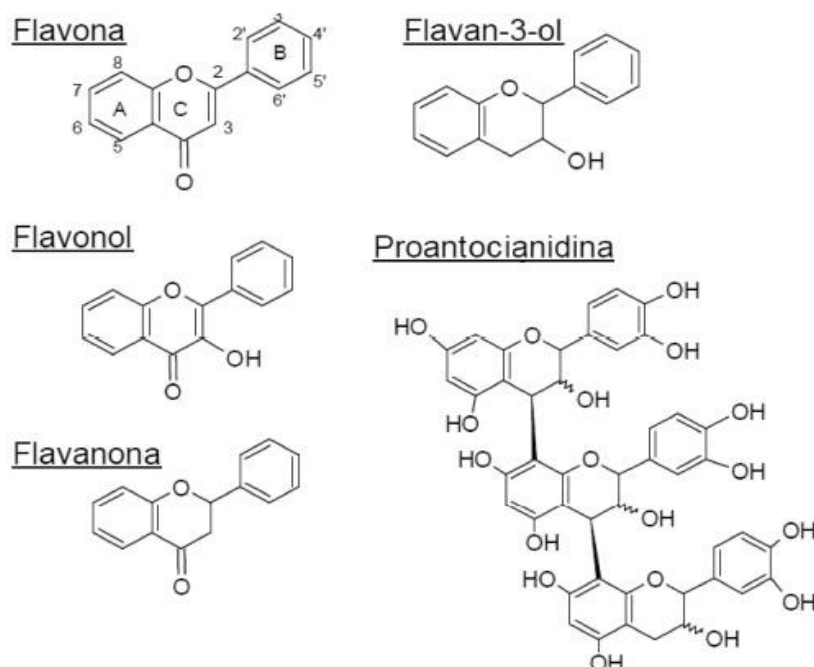
Algumas ideias erradas estão atribuídas ao consumo da bebida, enfatizando o poder maléfico do consumo à saúde. Pesquisas têm demonstrado que o consumo moderado de cerveja pode ser parte de um estilo de vida saudável de um adulto. No entanto, é importante enfatizar que os efeitos benéficos são conferidos apenas ao consumo moderado. Abusar da bebida pode ser prejudicial e está associado a muitos problemas de saúde crônicos, como câncer e hipertensão (SIERKSMA; KOK, 2012). Portanto, o consumo de bebidas alcoólicas em doses moderadas pode acarretar em uma vida mais longa e saudável do que quando ingerida de forma abusiva ou então, a abstenção da ingestão do álcool (BAMFORTH, 2004).

Há trabalhos desenvolvidos que indicam uma associação positiva entre o consumo moderado de álcool e a densidade mineral dos ossos e sobre a saúde do tecido conjuntivo. O etanol inibe a perda óssea, enquanto o silício aumenta a formação de osso (SIERKSMA; KOK, 2012).

Os compostos fenólicos podem ser encontrados em sua forma livre ou ligados a outros compostos, como ésteres e glicosídeos. Polifenóis derivados de ácidos hidrobenzóicos (ácido gálico, ácido protocatechuico, ácido siríngico) e ácidos hidroxicinâmicos (ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico, ácido caféico) são principalmente extraídos do malte, enquanto que os flavonóis (quercetina, canferol), chalconas (xantohumol) e flavanonas (isoxantohumol e prenilnaringenina) são encontrados no lúpulo. Catequinas, procianidinas e taninos derivados de flavonóis são igualmente encontrados no malte e no lúpulo. A composição final dos compostos fenólicos na cerveja depende da qualidade da matéria-prima utilizada e do processo de fermentação (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

Segundo Carvalho et al. (2014), durante o final do processo de malteação, melanoidinas são formadas por reações de Maillard através da interação entre açúcares redutores e os aminoácidos. O estudo dos compostos que podem afetar a capacidade antioxidante do malte é de extrema importância, não só devido à sua contribuição para a estabilidade oxidativa da cerveja, mas também para os benefícios que eles podem trazer para a saúde dos consumidores, como prevenção e neutralização de espécies reativas ao oxigênio. Por essa razão, os benefícios para a saúde através das melanoidinas são o foco de muitos pesquisadores em ciência dos alimentos e são referidos como tendo efeitos benéficos importantes, tais como antiradical, antimicrobiano e propriedades antioxidantes. Por outro lado, os compostos fenólicos representam um grupo químico de substâncias caracterizadas pela presença de pelo menos uma unidade de fenol. Classificadas pelo tipo e número de compostos fenólicos subcomponentes presentes, os polifenóis (Figura 05) são geralmente divididos em categorias como os taninos hidrolisáveis, do flavonóide elagitaninos ou fenilpropanoides: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavan-3-óis e proantocianidinas (ARON e SHELLHAMMER, 2010).

**Figura 05-** Estrutura de alguns flavonóides fenólicos.



**Fonte:** Aron e Shellhammer, 2010.

A cerveja apresenta uma gama de compostos fenólicos, 30% são provenientes do lúpulo e 70% do malte de cevada. Dentre os compostos isolados destacam-se os prenilflavonóides e os  $\alpha$ -ácidos. A chalconaxantohumul, juntamente com seu isômero isoxantohumul, formado durante o processamento, são os prenilflavonóides encontrados em maior concentração na cerveja. O xantohumul foi identificado como o principal agente na prevenção do câncer, devido à sua alta capacidade antioxidante, além de apresentar propriedades antiestrogênicas, anti-inflamatórias, antiangiogênicas, inibição da DNA polimerase e capacidade de controlar a proliferação de células cancerígenas (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

Os compostos fenólicos presentes nas matérias primas da cerveja são de grande importância, pois são responsáveis por suas características sensoriais, como também na estabilidade e qualidade da bebida devido a sua capacidade antioxidante. Mesmo sendo componentes de menor proporção da bebida, devido as suas propriedades e reatividade, esses compostos influenciam diversas etapas da produção, bem como os aspectos gerais da estabilidade da bebida (DVOŘOÁKOVÁ et al., 2008).

### 3.7 ESTABILIDADE E ASPECTOS SENSORIAIS DA CERVEJA

### 3.7.1 Estabilidade de Sabor, Aroma e Coloidal.

Um fator de grande importância da cerveja após o envase é a estabilidade do sabor, aroma e coloidal. Por ser uma bebida instável, diversas reações físico-químicas e microbiológicas acontecem durante seu armazenamento, sendo que tais mudanças podem ocorrer tanto em um curto espaço de tempo, quanto durante o envelhecimento em garrafa (BAMFORTH, 2011; TECHAKRIENGKRAI et al., 2006). Cao et al. (2011) relatam a queda de compostos aromáticos, como os ésteres voláteis, acetatos de etil e isoamila, no teor de polifenóis durante o envelhecimento. Essas quedas são potencializadas pela intensidade dos processos de pasteurização, que visam estabilizar a bebida. No mesmo trabalho foi analisado o efeito sensorial do envelhecimento nas bebidas pasteurizadas. Um painel com 10 julgadores treinados descreveram o perfil do sabor e aroma, e o resultado da análise para as amostras frescas foram de aromas de lúpulo e de ésteres frutados evidente, retrogosto amargo e sabor levemente adstringente. Com o envelhecimento de seis meses o aroma de lúpulo não estava mais presente, ocorreu um decréscimo no aroma dos ésteres e houve o surgimento de um leve sabor ácido. Conforme a intensidade da pasteurização aumentou, ocorreu desenvolvimento de sabor queimado, como também defeito conhecido como *light-struck*.

O *light-struck* é resultante da degradação dos alfa ácidos isomerizados do lúpulo, formado principalmente pelo composto 3-metil-2-buteno-1-tiol, e é caracterizado por apresentar um aroma pouco agradável. A bebida, além do aroma, pode apresentar instabilidade coloidal, como a formação de turbidez devido à reação entre as proteínas e os polifenóis, e também a formação de precipitados durante a exposição a temperaturas mais altas. A formação e retenção de espuma está relacionada à hidrofobicidade dos polipeptídeos de cereais e de resinas amargas do lúpulo, sendo instável na presença de lipídeos e durante contaminações por *Fusarium* sp. (BAMFORTH, 2011).

Nas cervejas mais leves, a suavidade, frescor e amargor são controlados pelo teor de compostos nitrogenados, ésteres voláteis e iso- $\alpha$ -ácidos. Estes descritivos sensoriais são os maiores correlatos na aceitabilidade sensorial. Nas cervejas com maior teor alcoólico, uma maior quantidade de matéria-prima fonte

de carboidratos é utilizada, assim a formação de alcoóis superiores e ésteres são maiores, acarretando em um perfil de sabor e aroma mais pronunciado. Cervejas deste tipo tendem a mudar a percepção sensorial com o envelhecimento com o ganho de complexidade, devido a reações de oxidação e biotransformações de diversos componentes, como os polifenóis indicadores de tempo de prateleira e a diminuição no amargor. Assim, as sensações na cavidade oral variam de acordo com o sabor e atributos de textura, como a viscosidade (corpo), sensação frizante (carbonatação) e palatabilidade. (LANGSTAFF e LEWIS, 1999; MALFLIET et al., 2009; HE et al., 2014; SANNA e PRETTI, 2015).

### 3.7.2 Análise Sensorial

A caracterização sensorial dos produtos de uma indústria é de grande importância pois ela é critério essencial nas áreas de controle de qualidade, desenvolvimento e pesquisa, e o marketing. É crucial o entendimento dessas características para a validação do uso das matérias-primas em relação aos parâmetros de processos aplicados e na qualidade final do produto (CHOLLET et al., 2011).

A ciência sensorial surgiu da necessidade de uma validação científica e sistemática dos alimentos. Por se tratar de uma ciência nova, ocorreu um progresso substancial na área nos últimos anos com o surgimento de diversas metodologias de análise. Ela pode contribuir no entendimento das diferentes respostas dos consumidores e das emergentes tendências em cada segmento da produção de alimentos. Só foi possível tal desenvolvimento na área devido ao reconhecimento do ser humano e sua condição psicológica como um instrumento de quantificação, assim ele passou a desempenhar um importante papel na evolução das técnicas de medição (TUORILA e MONTELEONE, 2009).

Para análises descritivas convencionais, é necessário um painel de julgadores com alta especialização para a obtenção de um resultado robusto e consistente, alto detalhamento das amostras e reprodutibilidade e estabilidade dos resultados. Porém, criar e manter uma equipe calibrada sensorialmente, requer altos custos e longos tempos de treinamento, geralmente sendo

impraticável para pequenas empresas, como também para estudos acadêmicos aonde o curto espaço de tempo e a falta de recursos financeiros impossibilitam o início do treinamento e a manutenção de uma equipe de julgadores (VARELA e ARES, 2012)

Com o objetivo de descrever qualitativa e quantitativamente as características sensoriais de um produto através de uma equipe de julgadores, diversas metodologias de análise sensorial rápida se tornam uma alternativa interessante, sendo o teste de ordenação empregado para a comparação de intensidade ou preferência de atributos de amostras, apresentadas de maneira simultânea, e também a avaliação da eficiência da equipe (STONE; SIDEL, 1998; MEILGAARD et al., 1999; McEWAN, 1999; MURRAY et al., 2001).

Para uma abordagem mais próxima do consumidor, o Perfil Livre é uma das opções a ser utilizada, pois neste método é permitido aos julgadores expressarem-se de maneira particular, não se fazendo necessário o treinamento da equipe. Como consequência, o tempo de análise é reduzido e a avaliação dos resultados é realizada por Análise Procrustes Generalizada (APG) para a verificação da repetibilidade e eficiência da equipe em aproximar a resposta de cada julgador com o consenso geral (DIJKSTERHUIS e GOWER, 1991; OLIVEIRA; BENASSI, 2003; THAMKE et al., 2009; RICHTER et al., 2010). O Perfil *Flash* é uma modificação do Perfil Livre sugerida por Dairou e Sieffermann (2002), e nessa análise descritiva os julgadores descrevem com suas próprias palavras os atributos das amostras simultaneamente comparadas, permitindo uma descrição rápida. A metodologia proposta pelo Perfil *Flash* pode ser individualizado e feito em apenas uma sessão (TERHAAG & BENASSI, 2010).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Na cerveja artesanal do estilo *Red Ale* preparada para os experimentos foram usados quatro tipos de malte (*pilsen* marca Globomalt<sup>®</sup>, melanoidina 80, *Caragold*<sup>®</sup> e *Black* marca Castle Malting<sup>®</sup>) e lúpulo *Admiral*<sup>®</sup>. Foram adicionadas especiarias: cúrcuma (*Curcuma longa* L.), pimentas-do-reino (*Piper Nigrum* L.),

ambas em pó da marca Kitano, e infundidas em forma de extrato alcoólico, e o lúpulo (*Humulus lupulus* L.) em forma de peletes, das marcas *Galaxy*<sup>®</sup> e *Citra*<sup>®</sup>. A levedura utilizada foi *Saccharomyces cerevisiae*, da marca *Mangrove Jack's M07 British Ale*. Os reagentes usados nas determinações analíticas foram todos de pureza analítica (P.A.).

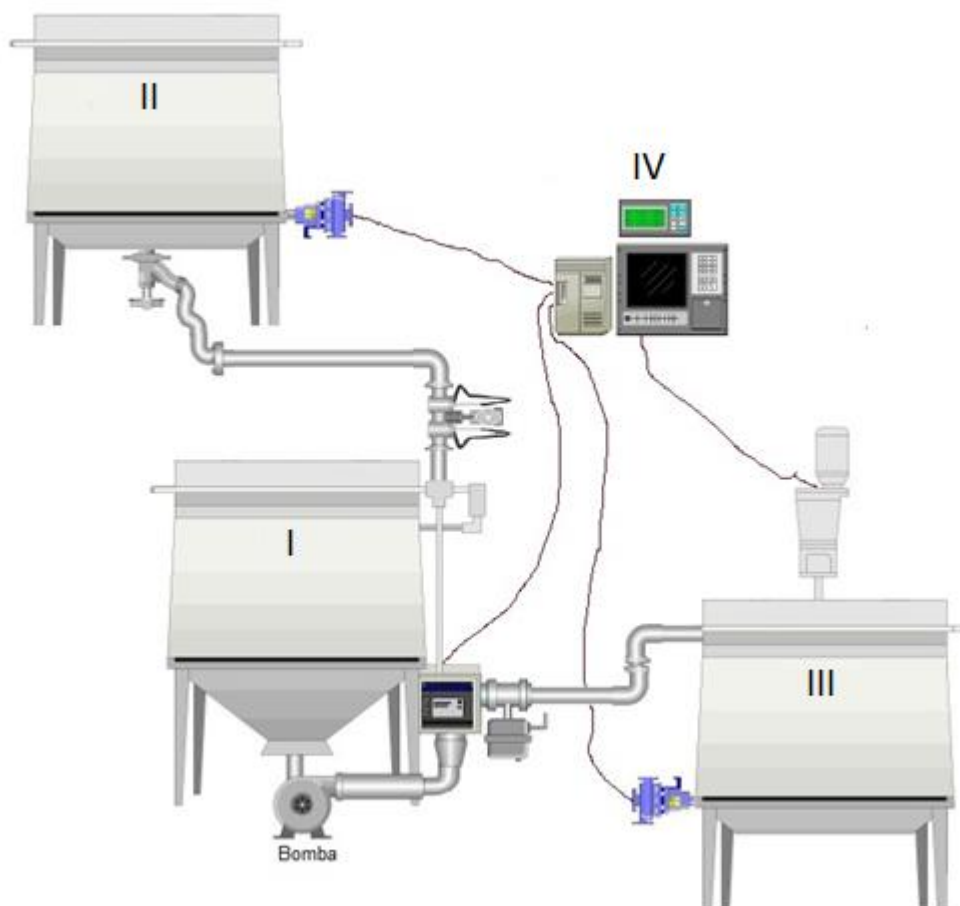
## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Formulação e modo de obtenção da Cerveja

A formulação foi obtida através de testes prévios, assim a base para a produção do mosto da cerveja foi de 800 g/kg de malte *pilsen*, 130 g/kg de malte melanoidina 80, 60 g/kg de malte *Caragold*<sup>®</sup> e 10 g/kg de malte *Black*, e utilizou-se lúpulo *Admiral*<sup>®</sup> para amargor na proporção de 0,45 g/L. A moagem dos grãos de malte foi feita em moinho de dois rolos e estes foram acrescentados em momentos distintos da produção.

No processo foi utilizado um módulo de brassagem com capacidade de produção de 20 litros de mosto. Este módulo constitui-se de três recipientes onde foram realizados os processos de mostura (I), aquecimento de água para lavagem do bagaço (II), recipiente de fervura (III) e controlador de temperatura (IV). O módulo em que foi obtido o mosto cervejeiro está representado na Figura 06.

**Figura 06** - Representação do módulo para a obtenção do mosto cervejeiro



**Fonte:**O próprio autor

Na fabricação das cervejas *Red Ale*, a mostura e clarificação foram conduzidas pelo método conhecido como “Sistema de Mostura com Recirculação e Aquecimento Direto” (RIMS – Recirculating Infusion Mash System).

Os grãos moídos de malte *pilsen*, melanoidina 80 e *Caragold*<sup>®</sup> foram adicionados com água na tina de mostura para a infusão dos mesmos e aquecidos, a execução desta etapa foi controlada e acompanhada em rampas com diferentes intervalos de tempo e temperatura. A temperatura de sacarificação do malte foi de 65 °C e o tempo de aquecimento se estendeu até a completa hidrólise do amido. Esta hidrólise foi acompanhada pelo teste de iodo e pelo teor de sólidos solúveis (°Bx) em intervalos de tempo de 20 minutos. Ao término desta etapa adicionou-se o malte *Black* e elevou-se a temperatura a 78

°C, por 10 minutos. O mosto obtido foi clarificado e procedeu-se a lavagem do bagaço com água a 78 °C.

O mosto recolhido foi submetido à fervura por uma hora e o lúpulo *Admira*<sup>®</sup> foi adicionado após 15 minutos do início.

A etapa seguinte foi a do turbilhonamento a quente do mosto, para remoção de partículas em suspensão. Após o resfriamento do mosto, até 22 °C, inoculou-se o microrganismo (*Saccharomyces cerevisiae*).

A fermentação foi conduzida em recipiente de 12 L, fechado e munido de válvula tipo *airlock*. A temperatura foi mantida em 19 °C, em estufa BOD, por tempo suficiente para a finalização do processo fermentativo. Este processo foi acompanhado pela medida do teor de sólidos solúveis e considerou-se o término quando se observou a atenuação do mosto, e o teor de sólidos solúveis permaneceu constante. O fermentado alcoólico foi trasfegado para separação da levedura e mantido a 4°C por 21 dias para a maturação da cerveja.

#### 4.2.2 Cervejas adicionadas de Especiarias

A partir do mosto base, obtido conforme descrito anteriormente, elaborou-se sete diferentes combinações entre lúpulo de aroma, cúrcuma e pimenta-do-reino, conforme as concentrações indicadas na Tabela 03, empregando a ferramenta estatística de delineamento de mistura.

O lúpulo de aroma (*Galaxy*<sup>®</sup>) foi adicionado nas cervejas ao final da etapa de fervura do mosto, antes do turbilhonamento e do processo de fermentação. A concentração usada foi de 2,5 g de peletes de lúpulo de aroma por litro de mosto. Adicionou-se também o lúpulo *Citra*<sup>®</sup>, na proporção de 2,5 g/ L de mosto nas cervejas após a fermentação, técnica conhecida como *dry hopping*.

Os extratos foram obtidos pela solubilização das especiarias cúrcuma e pimenta-do-reino em álcool de cereal a 40°GL por 2 dias, e adicionados de maneira integral. As concentrações de especiarias e o solvente extrator para a porção de cúrcuma foi de 1:2 g/mL, e para a pimenta-do-reino foi de 1,5:2 g/mL. Estas concentrações foram baseadas em experimentos preliminares. Estes extratos foram adicionados após 10 dias do início da etapa de maturação.

As bebidas obtidas foram envasadas em garrafas de vidro com capacidade para 300 mL. Adicionou-se uma solução de sacarose, na concentração de 5 g/L de cerveja, em cada recipiente e foram vedadas com tampas de alumínio. As garrafas foram mantidas em temperatura ambiente, e após 15 dias ocorreu fermentação do açúcar pelas leveduras remanescente dentro do recipiente e houve a formação de gás carbônico e consequentemente a carbonatação da cerveja. As cervejas foram então submetidas às determinações físico-químicas, compostos fenólicos totais, antioxidantes e análise sensorial.

#### 4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento simplex-centroide para três componentes (extrato de cúrcuma, extrato de pimenta-do-reino e lúpulo de aroma) foi aplicado com três repetições no ponto central, com  $2^{q-1}$  combinações de misturas, sendo que  $q$  é o número de componentes com soma igual a 1 ou 100 %.

O modelo matemático considerado foi do tipo especial cúbico, representado pela Equação 01.

$$Y_n(x) = \sum_{1 \leq i \leq q} \beta_i x_i + \sum_{1 \leq i < j \leq q} \beta_{ij} x_i x_j + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad (01)$$

A variável  $Y_n$  representa a função resposta dos dados experimentais (Compostos fenólicos totais, Atividade antioxidante DPPH, Atividade antioxidante FRAP). As variáveis independentes foram  $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$ , e correspondem à proporção de extrato de cúrcuma (C), extrato pimenta-do-reino (P) e lúpulo (L), respectivamente, e  $\beta$  os parâmetros estimados.

A adição das especiarias isoladamente ou em misturas foram avaliadas quanto as suas respostas, obtidas experimentalmente. As amostras do delineamento foram conduzidas junto com os experimentos denominados controle (R), nos quais não houve a adição de especiarias.

As diferentes combinações de cerveja obtida e etapas de adição das especiarias estão reunidas e apresentadas conforme a Tabela 02.

**Tabela 02** - Combinações de cervejas obtidas segundo o delineamento de mistura *simplex-centroide* e etapas de adição das especiarias.

Combinações	Mistura <sup>A</sup>	Etapa de adição
Cúrcuma (C)	(1,0,0)	Maturação
Pimenta-do-reino (P)	(0,1,0)	Maturação
Lúpulo (L)	(0,0,1)	Final de fervura / <i>dryhopping</i>
Pimenta+Cúrcuma	( $\frac{1}{2}$ , $\frac{1}{2}$ ,0)	Maturação
Lúpulo+Cúrcuma	( $\frac{1}{2}$ ,0, $\frac{1}{2}$ )	Final de fervura / Maturação
Lúpulo+Pimenta	(0, $\frac{1}{2}$ , $\frac{1}{2}$ )	Final de fervura / Maturação
Lúpulo+Pimenta+Cúrcuma	( $\frac{1}{3}$ , $\frac{1}{3}$ , $\frac{1}{3}$ )	Final de fervura / Maturação
R	(0,0,0)	Controle

**Onde:** <sup>A</sup> proporção de: Extrato de Cúrcuma (C) (1g/L de cerveja); Extrato de Pimenta-do-reino (P) (1,5 g/L de cerveja), Lúpulo de aroma (L) (5g/L de cerveja) e a cerveja controle (R).

**Fonte:** O próprio autor

#### 4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

##### 4.4.1 Análise de Cor

Para a análise de cor foram tomadas alíquotas de 50 mL de cervejas descarbonatadas e filtradas. O filtrado foi diluído em balão de 500 mL e procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 430 nm (Thermo – Genesys 6, USA), utilizando a água destilada como branco. Segundo a metodologia da seção 9.6 da EUROPEAN BREWERY CONVENTION (EBC, 2010). O valor da cor foi obtido de acordo com a Equação 02.

$$EBC = (Abs\ 430\ nm \times 12,7 \times d) \times 1,97 \text{ (Equação 02)}$$

$$d = \text{diluição}$$

O resultado da cor é dado em EBC que é a escala usada para medir a cor em cervejas.

##### 4.4.2 Análise de Amargor

A análise de amargor foi de acordo com a metodologia da seção 9.8 da EUROPEAN BREWERY CONVENTION (EBC 2010). Transferiu-se 10 mL de amostra com temperatura de 0°C, adicionou-se 20 mL de iso-octano, 1 mL de

HCl<sub>3</sub> mol/L e 1 gota de octanol. Agitou-se por 15 minutos e centrifugou-se a 1811 g, por 15 minutos. Retirou-se o sobrenadante e realizou-se leitura em espectrofotômetro a 275 nm (Thermo – Genesys6, USA). O iso-octano foi utilizado como branco.

O valor do amargor foi obtido segundo a Equação 03.

$$\text{IBU} = \text{Abs } 275 \text{ nm} \times 50 \quad (\text{Equação } 03)$$

O resultado do amargor é dado em IBU (International Bitterness Unit).

#### 4.4.3 Análise de Extrato Primitivo, Real, Aparente, Atenuação e Teor Alcoólico

As análises de extrato primitivo (°P), extrato real (°P), extrato aparente (°P), atenuação (%) e teor alcoólico (%) foram realizadas em infravermelho próximo (NIR), em Beer Analyzer ME (Anton Paar, USA). Todas as determinações foram realizadas nas amostras descarbonatadas. Os resultados foram analisados conforme a metodologia 9 da EUROPEAN BREWERY CONVENTION (EBC 2010).

#### 4.4.4 Análise de pH

O pH foi medido conforme a metodologia da seção 9.3.5 da EUROPEAN BREWERY CONVENTION (EBC 2010), com as amostras descarbonatadas em um potenciômetro digital (pHmetro PG2000, GEHAKA®, Brasil).

### 4.5 ANÁLISES DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ANTIOXIDANTES

As determinações espectrofotométricas a seguir foram feitas nas cervejas acondicionadas por um curto espaço de tempo, chamadas de amostras jovens, e em cervejas com tempo de guarda de 196 dias na garrafa, chamada de cervejas envelhecidas.

#### 4.5.1 Análise de Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados de acordo com o método espectrofotométrico proposto por Singleton e Rossi (1965), com

modificações realizadas por Zhao et al. (2010) e Strail et al. (2006). Em 0,5 mL de cerveja diluída em água (1:10) adicionou-se 0,5 mL de Folin – Ciocateu 0,9N, e após 5 minutos adicionou-se 1mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 100 g/L. Após 1 hora de repouso, em temperatura ambiente, procedeu-se as leituras em espectrofotômetro a 760 nm. O ácido gálico foi utilizado como padrão e o resultado expresso em mg de GAE por litro de cerveja (mg GAE/L).

#### 4.5.2 Atividade Antioxidante pelo Método de Captura de Radical Livre-DPPH

A capacidade de sequestrar radicais livres foi determinada de acordo com o método de Brand-Williams et al. (1995), com modificações realizadas por Zhao et al. (2010) e Strail et al. (2006). Adicionou-se 50 µL das cervejas diluídas (1:10), 1mL de metanol absoluto e 0,5 mL de DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazila) 250 µM. As amostras foram mantidas na ausência de luz por 30 minutos e em seguida foi realizada a leitura em 517 nm. Os resultados foram comparados com uma curva padrão de reagente Trolox e o resultado expresso em mmol por litro de cerveja (mmol TE/L).

#### 4.5.3 Atividade Antioxidante pelo Método de Redução do Ferro- FRAP (*ferric reducing antioxidant power*)

A atividade antioxidante pela redução do íon férrico foi determinada pela metodologia proposta por Tafulo et al. (2010), com adaptações. Uma alíquota de 900 µL de solução obtida da mistura de 25 mL de tampão de acetato (5mM e pH de 3,6), com 2,5 mL de TPTZ (2,4,6-Tripiridyl-s-Triazine)(10 mM) dissolvido em HCl (40 mM), a 50 °C e 25 mL de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (20 mM), foi misturada a 30 µL de cerveja e 70 µL de água. Após a mistura, as amostras permaneceram à temperatura ambiente, por 30 minutos, e em seguida foi realizada a leitura da absorbância, em 593 nm. Utilizou-se curva de calibração com Trolox em função da porcentagem de íon férrico sequestrado. O resultado foi expresso em mmol de Trolox equivalente por litro de cerveja (mmol TE/L).

#### 4.6 ANÁLISE SENSORIAL DESCRITIVA

O procedimento dos testes foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, da Universidade Estadual de Londrina (CAAE 53187815.8.0000.5231). Os participantes eram consumidores regulares de cerveja e foram informados que os produtos apresentavam teor alcoólico aproximado de 5% a 6% (v/v), e da possível presença de glúten, cúrcuma e pimenta-do-reino.

A equipe foi composta por 16 julgadores homens, com alta escolaridade (3º grau completo). Os julgadores consumiam cerveja *Premium* e eram associados ou simpatizantes da Confraria dos Cervejeiros Artesanais Norte e Nordeste do Paraná (CONCERVA). Os participantes apresentavam diversidade na faixa etária (56% entre 26 e 35 anos, 38% entre 36 e 50 anos e 6% entre 18 e 25 anos) e de hábito de consumo de cerveja (63% de 4 a 6 vezes por semana, 25% todos os dias e 13% de 1 a 3 vezes por semana). Os participantes foram questionados a respeito de ingestão de cervejas do segmento *premium* e relataram preferir cervejas lupuladas e com alto teor alcoólico.

Foram realizadas duas sessões, uma com as amostras jovens e outra com as amostras envelhecidas na garrafa. Em todas as provas, as quatro amostras foram servidas simultaneamente, e a ordem de apresentação foi aleatorizada para cada julgador.

Na primeira sessão, cada julgador recebeu informação sobre o procedimento de prova e a metodologia. No levantamento de atributos, os julgadores observaram as similaridades e diferenças das amostras jovens em relação à aparência, aroma, sabor e textura do conjunto de amostras, sendo instruídos a evitar termos hedônicos. Um protocolo de levantamento de atributos foi fornecido a cada julgador com instruções para os diferentes atributos, considerando aspectos visuais (cor, turbidez, retenção e formação de espuma), aroma, sabor e textura (corpo, carbonatação e *drinkability*).

Após esse levantamento, em entrevista individual, cada julgador foi assistido no desenvolvimento do vocabulário. Foi montada uma ficha específica para cada julgador registrando os atributos encontrados e uma lista com as respectivas definições. Após o desenvolvimento da ficha de avaliação, as amostras foram reapresentadas e os julgadores ordenaram os produtos para cada termo descritivo em ordem crescente de acordo com a intensidade. O

tempo total da primeira sessão variou entre o painel, e foi de aproximadamente 30 a 50 minutos. Na segunda sessão com o mesmo grupo, foi executada a mesma metodologia da primeira sessão com o tempo de duração da sessão entre 20 e 45 minutos.

Como critérios para avaliar a eficiência da equipe, foram consideradas as variâncias residuais de cada julgador e a configuração dos julgadores. A análise final dos resultados descritivos foi baseada numa configuração de consenso das amostras, que foi interpretada analisando as correlações (de cada atributo com as dimensões 1 e 2) para cada julgador. O critério utilizado na escolha dos atributos para análise foi considerar os termos que apresentaram para cada julgador, sendo a correlação, em módulo, igual ou superior a 0,60, e que tivessem sido citados por um maior número de julgadores. As análises das cervejas novas e envelhecidas foram feitas separadamente, comparando-se as configurações.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicatas, e os dados tratados através de análise de variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla das médias (Tukey), em nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ). A otimização das condições e os coeficientes da regressão do delineamento de mistura foram determinados por meio do *software* Statistica v.9.0 (Statsoft – Oklahoma – EUA).

Os resultados de Perfil *Flash* foram avaliados por Análise Procustres Generalizada utilizando o programa Senstools Versão 2.3.28 (OP & P PRODUCT RESEARCH, 1995). Os dados foram inseridos na forma de matrizes (uma por julgador) de quatro linhas (amostra) e o número de colunas variando de 7 a 20 (atributos).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Comparando os resultados obtidos (Tabela 03) com o guia *Beer Judge Certification Program* (BJCP), as cervejas estão dentro das faixas dos estilos de cervejas avermelhadas.

**Tabela 03** - Caracterização físico-química das cervejas seguindo o delineamento de misturas

Amostras	EBC	IBU	Densidade	Extrato Primitivo (°P)	Extrato Real (°P)	Extrato Aparente (°P)	ABV (% v/v)	Atenuação (%)	pH
Controle	31,6 ± 1,13 <sup>a</sup>	14,98 ± 1,12 <sup>a</sup>	1,005 ± 0,003 <sup>a</sup>	13,02 ± 1,00 <sup>a</sup>	3,94 ± 0,82 <sup>a</sup>	1,81 ± 0,17 <sup>a</sup>	4,87 ± 0,11 <sup>a</sup>	69,90 ± 3,91 <sup>a</sup>	4,32 ± 0,19 <sup>a</sup>
Cúrcuma	30,7 ± 1,08 <sup>a</sup>	14,61 ± 1,11 <sup>a</sup>	1,009 ± 0,005 <sup>a</sup>	13,18 ± 0,97 <sup>a</sup>	3,83 ± 0,86 <sup>a</sup>	1,63 ± 0,84 <sup>a</sup>	5,03 ± 0,21 <sup>a</sup>	71,13 ± 4,45 <sup>a</sup>	4,34 ± 0,20 <sup>a</sup>
Pimenta-do-reino	32,5 ± 0,32 <sup>a</sup>	31,53 ± 1,04 <sup>b</sup>	1,001 ± 0,0001 <sup>a</sup>	12,43 ± 0,35 <sup>a</sup>	3,10 ± 0,14 <sup>a</sup>	0,94 ± 0,12 <sup>a</sup>	5,00 ± 0,14 <sup>a</sup>	75,10 ± 0,14 <sup>a</sup>	4,37 ± 0,01 <sup>a</sup>
Lúpulo	32,2 ± 1,14 <sup>a</sup>	52,59 ± 1,05 <sup>c</sup>	1,003 ± 0,00 <sup>a</sup>	12,36 ± 0,70 <sup>a</sup>	3,41 ± 0,55 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,54 <sup>a</sup>	4,80 ± 0,22 <sup>a</sup>	72,35 ± 2,97 <sup>a</sup>	4,44 ± 0,12 <sup>a</sup>
Pimenta+Cúrcuma	33,1 ± 1,45 <sup>a</sup>	29,91 ± 1,48 <sup>b</sup>	1,001 ± 0,0004 <sup>a</sup>	11,92 ± 0,88 <sup>a</sup>	2,99 ± 0,25 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,11 <sup>a</sup>	4,75 ± 0,35 <sup>a</sup>	74,9 ± 0,28 <sup>a</sup>	4,38 ± 0,04 <sup>a</sup>
Lúpulo+Cúrcuma	34,3 ± 0,22 <sup>a</sup>	47,59 ± 1,29 <sup>d</sup>	1,002 ± 0,0004 <sup>a</sup>	12,50 ± 0,16 <sup>a</sup>	3,17 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,99 ± 0,11 <sup>a</sup>	5,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	74,65 ± 0,63 <sup>a</sup>	4,42 ± 0,78 <sup>a</sup>
Lúpulo+Pimenta	32,5 ± 0,32 <sup>a</sup>	61,38 ± 1,22 <sup>e</sup>	1,002 ± 0,001 <sup>a</sup>	12,57 ± 0,17 <sup>a</sup>	3,28 ± 0,24 <sup>a</sup>	1,10 ± 0,26 <sup>a</sup>	5,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	73,9 ± 1,55 <sup>a</sup>	4,48 ± 0,10 <sup>a</sup>
Lúpulo+Pimenta+Cúrcuma	31,5 ± 0,66 <sup>a</sup>	68,90 ± 1,09 <sup>f</sup>	1,002 ± 0,0001 <sup>a</sup>	12,88 ± 0,60 <sup>a</sup>	3,20 ± 0,13 <sup>a</sup>	0,94 ± 0,02 <sup>a</sup>	5,02 ± 0,28 <sup>a</sup>	75,10 ± 0,14 <sup>a</sup>	4,44 ± 0,10 <sup>a</sup>

Médias e desvio padrão seguidos por letras iguais em uma mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os valores de cor das cervejas (EBC) não variaram significativamente entre os tratamentos, a cor foi pouco influenciada pela presença das especiarias. A cúrcuma é utilizada como ingrediente que substitui corantes sintéticos em alimentos (CECILIO FILHO, 2000). Neste estudo, a especiaria não interferiu na cor da bebida, isto pode ser explicado pela baixa concentração utilizada. Segundo o BJCP, o valor superior do estilo *amber ale* é de 34 EBC, assim, as cervejas desse estudo encontram-se dentro da faixa de cor para cervejas avermelhadas. A cor mais escura desta cerveja pode ser atribuída à presença de maltes especiais e também pela caramelização dos açúcares redutores, como relatado por Granato et al. (2011), tendo pouca relação com a adição das especiarias.

O amargor (IBU) não variou entre os tratamentos cúrcuma e controle, com o valor abaixo do limite inferior do estilo *Irish Red Ale*, e também entre a pimenta-do-reino e a sua blenda com a cúrcuma, com o resultado dentro da faixa do estilo *Amber Ale*, mostrando que a adição do extrato de cúrcuma não influenciou significativamente neste quesito. Já para os tratamentos que levaram lúpulo, as cervejas apresentaram o maior teor de amargor, essas dentro da faixa do estilo *Red IPA*, ressaltando que o lúpulo é um componente imprescindível na produção de cerveja. A isomerização do composto ácido  $\alpha$ -lupúlico (humulonas) presente no lúpulo aumenta o amargor da cerveja (LINDSAY, 2010). Os tratamentos que receberam lúpulo tiveram em média 350% mais amargor que os tratamentos que não receberam. Às cervejas que receberam extrato de pimenta-do-reino apresentaram teores de amargor intermediários entre o controle e a cúrcuma e o lúpulo, respectivamente. Segundo Meerov e Katyuzhanskaya (1973), a pimenta-do-reino apresenta substâncias amargas, como os alcalóides, o que pode explicar o aumento do amargor dado em IBU para estes tratamentos.

Cervejas com valores acima de 45 mL de álcool/L são consideradas com alto teor. Todas as cervejas obtidas apresentaram valores superiores a 48,0 mL de álcool/L, esses dentro das faixas dos estilos *Irish Red Ale* e *American Amber Ale*. Já os valores de densidade da bebida foram relativamente baixos quando comparados a outros trabalhos. O que era de se esperar uma vez que à medida que ocorre alto grau de atenuação há a diminuição no teor de açúcar, aumento no teor de álcool e diminuição na densidade da bebida (BARBETTA, 2015; FERREIRA, 2013). Ainda, os valores de densidade e o teor de álcool por volume

não apresentaram diferença estatísticas entre todos os tratamentos.

A atenuação da levedura está nos parâmetros fornecido pelo fabricante, que é de 70 a 80%, não ocorrendo diferença significativa entre os tratamentos. Os extratos primitivo, real e aparente nos diferentes tratamentos não tiveram variação estatística significativa.

O pH final das bebidas ficou próximo aos reportados na literatura e não apresentou diferença significativa. Sleiman et al. (2010) cita pH próximo de 4,50 para cervejas de malte. O pH final da cerveja depende de alguns fatores como pH do mosto, do poder tampão e da formação de ácidos durante a fermentação (REINOLD, 1997).

## 5.2 ANÁLISES DE FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

### 5.2.1 Determinação de Compostos Fenólicos

O delineamento experimental de misturas e os resultados obtidos para a resposta dos compostos fenólicos totais encontram-se na Tabela 04, tanto para as cervejas recém-preparadas (jovens), como para as cervejas envelhecidas em garrafa por 196 dias.

**Tabela 04** - Quantidade de compostos fenólicos totais em equivalência com ácido gálico para amostras recém-preparadas e envelhecidas em garrafa por 196 dias.

Amostras	Teor fenólicos totais (mg GAE/L)		
	Jovem	Envelhecida	Taxa de decaimento (%)
Controle	300,00 ± 12,45	220,80 ± 8,58	26,4
Cúrcuma	284,52 ± 8,24	217,97 ± 12,74	20,1
Pimenta-do-reino	272,74 ± 37,35	210,72 ± 14,80	22,7
Lúpulo	289,76 ± 7,87	204,71 ± 14,67	29,3
Pimenta+Cúrcuma	284,29 ± 8,21	211,74 ± 10,31	25,5
Lúpulo+Cúrcuma	304,17 ± 16,68	216,23 ± 15,00	28,9

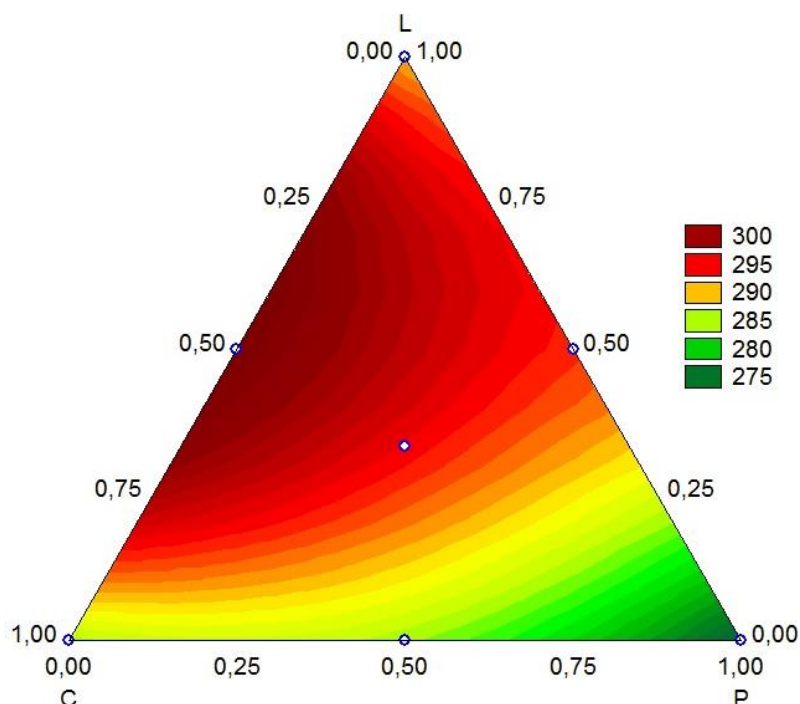
Lúpulo+Pimenta	293,45 ± 7,33	210,72 ± 14,05	28,2
Lúpulo+Pimenta+Cúrcuma	294,88 ± 6,04	221,52 ± 3,08	24,9

A variação de compostos fenólicos entre cervejas do mesmo estilo pode ser explicada devido à qualidade e quantidade das matérias-primas utilizadas e as técnicas empregadas na produção da cerveja (BAMFORTH, 2003; PIAZON et al. 2010). Os resultados obtidos no presente estudo foram inferiores às cervejas do tipo *brown ale* (525,93 – 292,31 mg GAE/L) e superiores às cervejas do tipo *lagers* (200,21 – 122,20 mg GAE/L), apresentados no estudo de Granato et al. (2010). Os conteúdos de compostos fenólicos de Zhao et al. (2010) para as cervejas chinesas do tipo *lager* com adjuntos (255,00 - 152,01 mg GAE/L) como milho e arroz, apresentaram quantidades inferiores destes compostos quando comparadas ao deste estudo. Já os teores de compostos fenólicos totais obtidos neste estudo foram menores do que os encontrados em cervejas europeias, como apresentado por Piazon et al. (2010) (366 – 875 mg GAE/L) e Mitić et al. (2014) (545,32 – 328,22 mg GAE/L).

Compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes na bebida, melhorando a estabilidade do sabor, e tornam-se indicativos do tempo de prateleira do produto (ARON & SHELLHAMMER, 2010). Estudo apresentado por Cao et al. (2011) mostrou que ocorre uma degradação oxidativa dos polifenóis na cerveja com o passar do tempo em que o produto está exposto em prateleira, com a taxa de decaimento entre 18,7 e 13,7%, corroborando com o encontrado neste trabalho.

A Figura 07 apresenta a região de contorno da contribuição de cada especiaria com a quantidade de fenólicos totais para as cervejas (jovens) com curto tempo de garrafa. No delineamento de mistura o valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi de 0,898.

**Figura 07** - Região de combinação entre as variáveis para compostos fenólicos totais em cervejas jovens com extrato de cúrcuma (C), Extrato de Pimenta-do-reino (P) e Lúpulo (L).



Ao observar a região de combinação, é possível concluir que a melhor resposta para o composto fenólico foi a mistura binária de lúpulo e cúrcuma na proporção de 50% de cada, com valor superior a 300 mg GAE/L. A equação canônica ajustada aos dados experimentais (Equação 04) apresenta o teor de compostos fenólicos totais (CPT), em função das variáveis independentes.

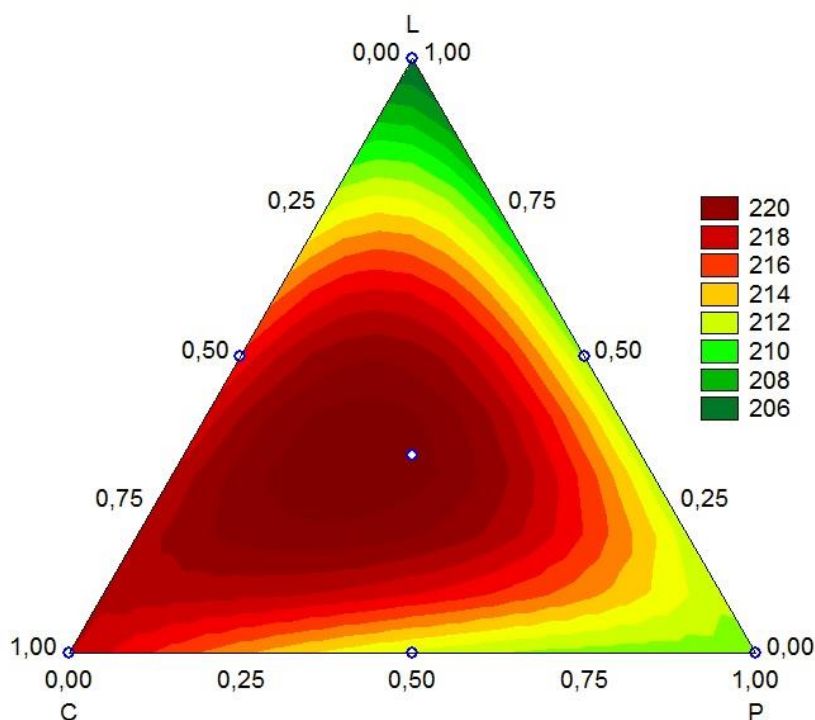
$$CPT = (284,52 * C) + (272,74 * P) + (289,76 * L) + (22,62 * P.C) + (68,09 * L.C) + (48,80 * L.P) + (-80,00 * L.P.C) \quad \text{Eq. (04)}$$

Ao analisar a Eq. 1 tem-se que todas as especiarias avaliadas isoladamente foram significativas em nível de 5% e influenciaram de modo positivo na resposta de compostos fenólicos totais. Tal comportamento pode ser explicado pelo fato de que os compostos fenólicos das especiarias cúrcuma e pimenta-do-reino e os compostos provenientes do lúpulo encontram-se disponíveis sem reagir com radicais livres e os íons metais (SCHÖNBERGER & KOSTELECKY, 2011). Analisando os resultados compostos fenólicos totais

obtidos por Oboh et al. (2013) que foi de  $4,41 \pm 0,34$  mg GAE/100g para a pimenta-do-reino, Niranjam et al. (2013) na faixa de  $18,23 \pm 0,98$  a  $27,72 \pm 0,71$  mg GAE/g para a cúrcuma e Gorjanović et al. (2013) na faixa de  $117,9 \pm 3,7$  a  $190,8 \pm 4,6$  mg GAE/g para o lúpulo, observa-se que a pimenta-do-reino é a que tem menor teor de compostos fenólicos, e dessa forma ela contribui menos para a concentração desses compostos na bebida.

Para as cervejas envelhecidas mantidas em armazenamento por longo tempo, o  $R^2$  foi de 0,938 para o modelo cúbico especial, e o planejamento de mistura encontra-se na Figura 08.

**Figura 08** - Região de combinação entre as variáveis para compostos fenólicos totais em cervejas envelhecidas com extrato de cúrcuma (C), Extrato de Pimenta-do-reino (P) e Lúpulo (L).



Ao analisar a superfície de resposta observa-se que os maiores valores obtidos estão concentrados no centro da blenda terciária com resultados superiores em direção à cúrcuma. O lúpulo é a especiaria que apresenta o menor valor. Um efeito sinérgico entre as especiarias pode explicar o aumento dos compostos fenólicos. Este comportamento pode ser explicado pelo modelo preditivo evidenciado na Equação 05:

$$CPT = (217,97 * C) + (210,72 * P) + (204,71 * L) + (-10,43 * P.C) + (19,56 * L.C) + (12,03 * L.P) + (216,91 * L.P.C) \quad \text{Eq. (05)}$$

Os compostos fenólicos do lúpulo que atuam como estabilizadores da bebida (SCHÖNBERGER & KOSTELECKY, 2011) podem ter reagido com radicais livres ou se ligado aos íons metálicos durante o armazenamento em garrafa e assim estarem menos disponíveis. Os compostos da cúrcuma, por serem estáveis em pH similar ao encontrado na cerveja, e por o armazenamento ter sido na ausência de luz (CECILIO-FILHO et al., 1998), pode explicar o resultado da maior disponibilidade do que as demais especiarias.

Observando a taxa de decaimento do teor de fenólicos totais durante o envelhecimento, observou-se que a cúrcuma obteve o menor valor, por ser um produto com características antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes (SUETH-SANTIAGO et al., 2015), e portanto, pode vir ser um substituto ou um complemento do lúpulo como conservador natural na bebida.

### 5.2.2 Atividade antioxidante - DPPH

Os resultados obtidos das atividades antioxidantes DPPH, para as cervejas *red ale* jovens e envelhecidas, com as especiarias e suas respectivas blendas segundo o planejamento simplex centroide encontram-se na Tabela 05.

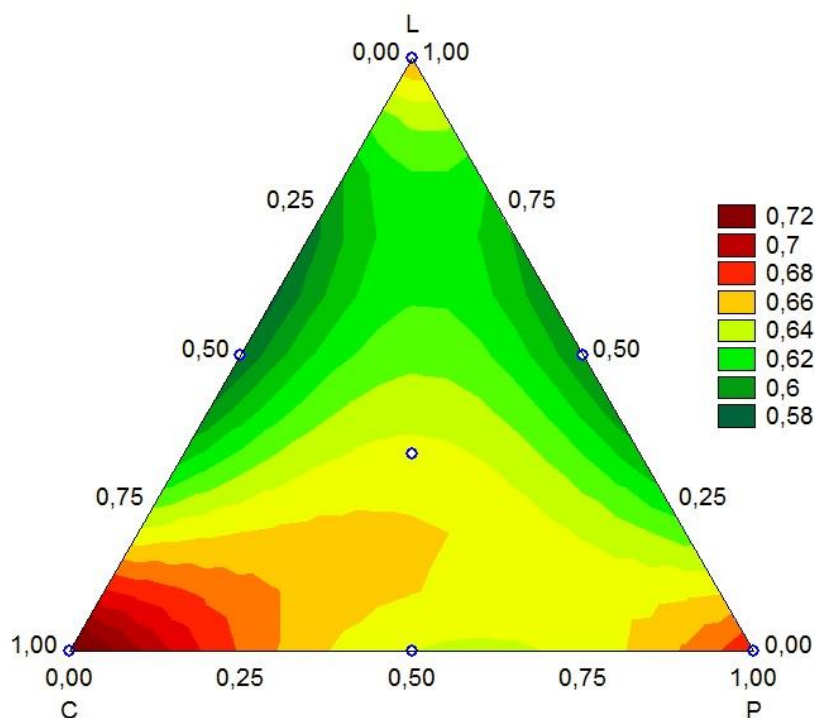
**Tabela 05** - Atividade antioxidante DPPH com equivalência em Trolox para amostras jovens e envelhecidas na garrafa.

Amostras	DPPH (mmol/L Trolox)		
	Jovem	Envelhecida	Taxa de decaimento (%)
Controle	0,80 ± 0,03	0,54 ± 0,11	32,5
Cúrcuma	0,73 ± 0,11	0,59 ± 0,01	19,2
Pimenta	0,68 ± 0,06	0,54 ± 0,07	20,5
Lúpulo	0,66 ± 0,03	0,52 ± 0,05	21,2
Pimenta+Cúrcuma	0,64 ± 0,08	0,55 ± 0,02	14,0
Lúpulo+Cúrcuma	0,58 ± 0,04	0,55 ± 0,01	5,2
Lúpulo+Pimenta	0,59 ± 0,04	0,55 ± 0,03	6,8
Lúpulo+Pimenta+Cúrcuma	0,64 ± 0,03	0,56 ± 0,02	12,5

Os resultados obtidos para as cervejas jovens foram similares aos resultados de cervejas européias encontrados por Mitić et al. (2014). Por outro lado, estes resultados foram inferiores ao das cervejas *ale* belgas (0,89 – 0,91 mmol/L Trolox) e superiores a *lagers* com adjuntos (0,24 – 0,58 mmol/L Trolox), encontrados por Tafulo et al. (2010) e Zhao et al. (2010). Já para as cervejas envelhecidas, os valores obtidos foram similares às cervejas *lagers* (0,51 – 0,58 mmol/L Trolox), de acordo com Zhao et al. (2010).

Os baixos valores de atividade antioxidantes DPPH para as cervejas jovens podem ser explicados pela qualidade da matéria-prima utilizada e o processo de fabricação. Uma vez que a matéria-prima para a obtenção da cerveja é importada, e parte dos compostos que atuam como antioxidantes podem ter sido degradados por oxidação, a sua atividade é diminuída (ARON & SHELLHAMMER, 2010). Segundo Tafulo et al. (2010) e Piazzon et al. (2010), cervejas do tipo *ale* apresentam uma capacidade antioxidante maior do que *lagers*, e esta é aumentada conforme a cerveja desenvolve coloração. Cervejas de cor marrom avermelhadas apresentam um poder antioxidante maior devido aos antioxidantes presentes nos maltes escuros, e com o aumento do álcool essa atividade também aumenta. No presente estudo pode-se observar que a atividade antioxidante reduziu conforme o tempo de armazenamento da bebida, resultado similar com o descrito por Cao et al. (2011), que relatou decaimento de 30 a 40%. No planejamento de mistura simplex-centróide, usando um modelo cúbico especial, obteve-se um  $R^2$  de 0,866. Na Figura 09 pode-se observar o comportamento de cada especiaria para a atividade antioxidante em cervejas jovens.

**Figura 09** - Região de combinação entre as variáveis para atividade antioxidante DPPH em cervejas jovens com extrato de cúrcuma (C), Extrato de Pimenta-do-reino (P) e Lúpulo (L).



A superfície de resposta demonstra que a especiaria com melhor resultado para a atividade antioxidante foi à cúrcuma, seguida da pimenta-do-reino e por final o lúpulo. No pH da cerveja, próximo a 4,4, a curcumina apresenta um equilíbrio ceto-enólico, nesta forma estável a molécula se transforma em doadora de hidrogênio comprovando as propriedades antioxidantes (SUETH-SANTIAGO et al., 2015). Nos estudos de Nikolić et al. (2015) e Suhaj et al. (2006), a pimenta-do-reino, tanto na forma de pó ou extrato, apresenta capacidade antioxidante devido aos seus compostos fenólicos e alcalóides.

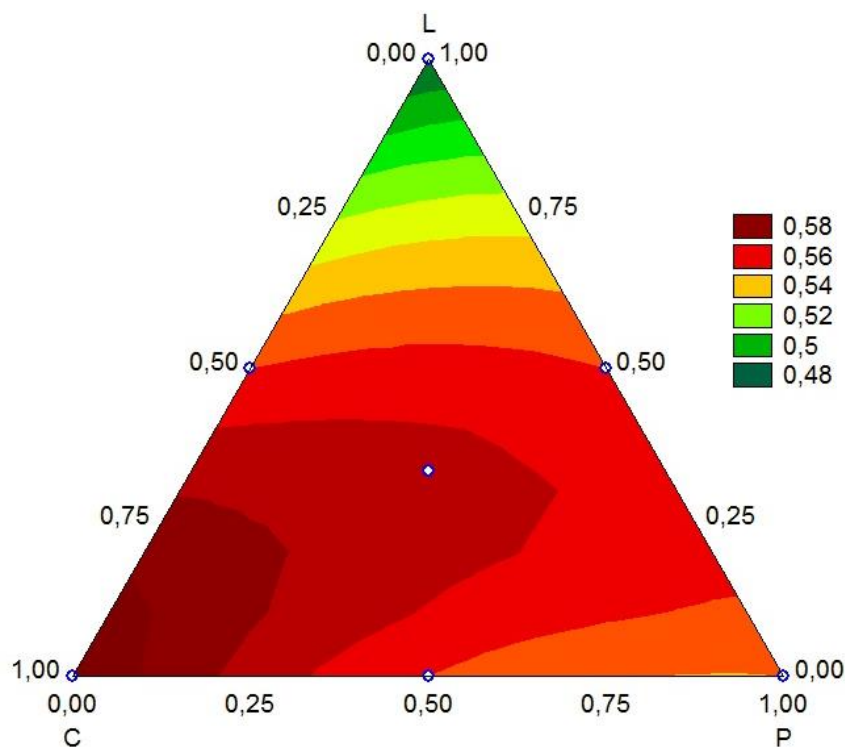
O modelo preditivo do planejamento para a atividade antioxidante DPPH em cervejas jovens encontra-se na Equação 06.

$$DPPH = (0,73 * C) + (0,68 * P) + (0,66 * L) + (-0,26 * P.C) + (-0,46 * L.C) + (-0,32 * L.P) + (1,86 * L.P.C) \quad \text{Eq. (06)}$$

Com a aplicação do delineamento experimental de mistura simplex centróide para a variável atividade antioxidante DPPH em amostras armazenadas em garrafa (envelhecidas), obteve-se um  $R^2$  de 0,891. A Figura 10

apresenta o comportamento de cada especiaria para a atividade antioxidante previsto através do modelo especial cúbico.

**Figura 10** - Região de combinação entre as variáveis para atividade antioxidante DPPH em cervejas envelhecidas com extrato de cúrcuma (C), Extrato de Pimenta-do-reino (P) e Lúpulo (L).



Observa-se que com o transcorrer do tempo de armazenamento em garrafa, as cervejas com extrato de cúrcuma foram as que apresentaram melhor resposta de atividade antioxidante, bem como a menor taxa de decaimento entre as cervejas sem blends de especiarias. Isto pode ser atribuído à estabilidade dos compostos fenólicos. Já as cervejas com extrato de pimenta-do-reino e suas misturas secundárias mantiveram um valor de atividade antioxidante menor que o da cúrcuma, e por sua vez o lúpulo apresentou um valor ainda menor. Na Equação 07 se encontra o modelo preditivo da superfície de resposta.

$$DPPH = (0,59 * C) + (0,54 * P) + (0,48 * L) + (-0,06 * P.C) + (0,06 * L.C) + (0,16 * L.P) + (0,24 * L.P.C) \quad \text{Eq. (07)}$$

### 5.2.3 Atividade Antioxidante - FRAP

Os resultados obtidos e apresentados na Tabela 06 são referentes à atividade antioxidante FRAP segundo delineamento de misturas do tipo simplex-centroide, para as cervejas jovens e para as cervejas envelhecidas em garrafa.

**Tabela 06:** Atividade antioxidante FRAP com equivalência em Trolox para amostras de cervejas jovens e envelhecidas em garrafa.

Amostras	FRAP (mmol/L Trolox)		
	Jovem	Envelhecida	Taxa de decaimento (%)
Controle	377,00 ± 30,11	339,67 ± 48,33	9,9
Cúrcuma	369,67 ± 22,74	337,67 ± 31,89	8,6
Pimenta	360,33 ± 13,86	316,67 ± 25,50	12,1
Lúpulo	368,33 ± 22,81	333,33 ± 19,01	9,5
Pimenta+Cúrcuma	359,00 ± 16,82	320,67 ± 20,84	10,7
Lúpulo+Cúrcuma	372,67 ± 17,04	331,67 ± 75,80	11,0
Lúpulo+Pimenta	389,33 ± 4,72	333,00 ± 23,81	14,4
Lúpulo+Pimenta+Cúrcuma	405,67 ± 15,82	348,67 ± 16,04	14,0

Os resultados obtidos para as cervejas jovens foram menores do que os reportados por Mitić et al. (2014) na faixa de 412,19±3,83 a 831,20±3,83 mmol/L para cervejas européias, e encontrado por Tafulo et al. (2010) na faixa de 358,80±17,9 a 483,80±15,5 mmol/L para cervejas *ale*. No decorrer do armazenamento em garrafa, a atividade antioxidante reduziu, e ao comparar com dados da literatura apresentados por Tafulo et al. (2010), atingiram patamar superior ao das cervejas tipo *lagers* encontrados na faixa de 121,6±50,5 a 348,4±0,0 mmol/L.

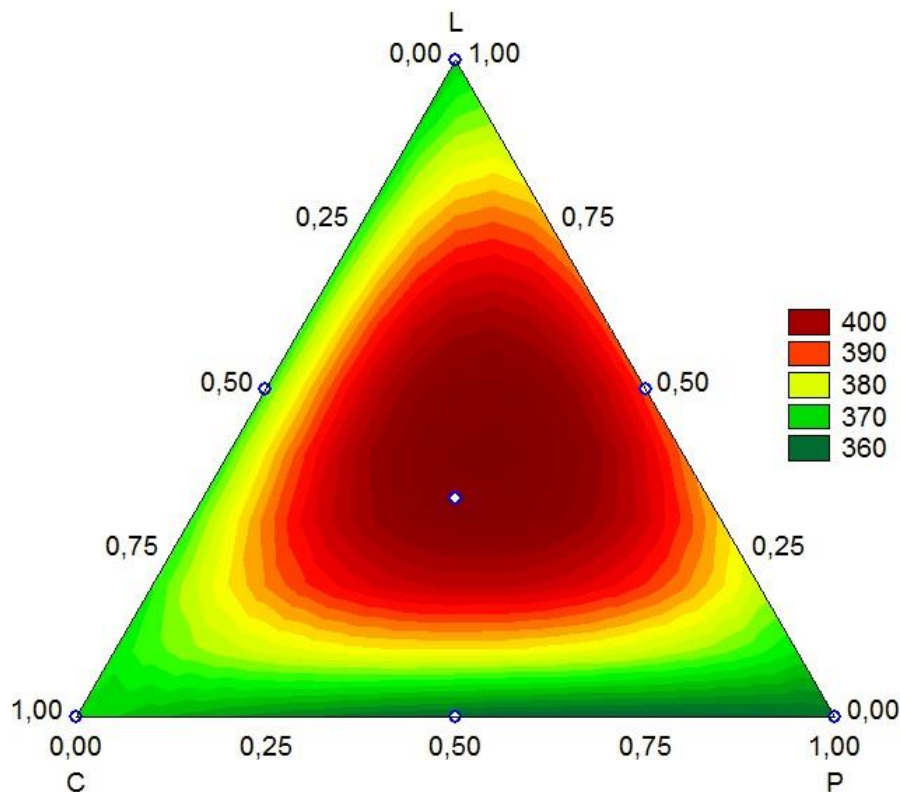
Um modelo preditivo para cervejas jovens foi gerado e está apresentado na Equação 08.

$$FRAP = (369,67 * C) + (360,33 * P) + (368,33 * L) + (-24,00 * P.C) \quad \text{Eq. (08)} \\ + (14,68 * L.C) + (98,68 * L.P) + (799,50 * L.P.C)$$

A regressão obtida do planejamento para as amostras de cervejas jovens foi de 0,863 ( $R^2$ ). Na superfície de resposta da Figura 11 observa-se que a região central foi a que apresentou os maiores valores de resposta, seguido da blenda secundária entre o lúpulo e a pimenta-do-reino. As especiarias sozinhas apresentaram um valor menor do que quando misturadas, e a pimenta-do-reino apresentou o menor valor para a atividade antioxidante FRAP. O maior valor

para a atividade antioxidante obtida com a blenda das três especiarias demonstra que a mistura destas pode ter um efeito sinérgico e contribuir no aumento da capacidade de redução do ferro.

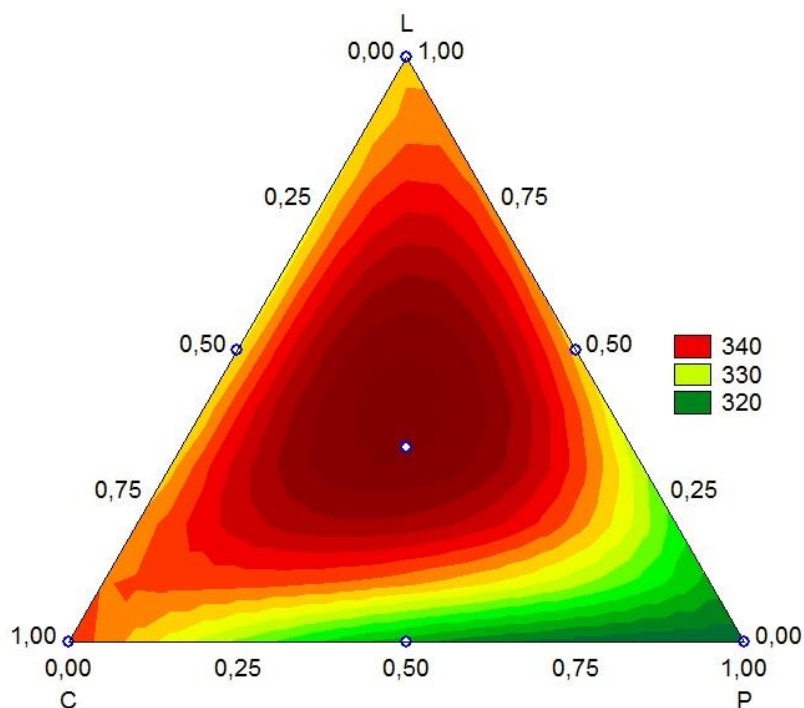
**Figura 11** - Região de combinação entre as variáveis para atividade antioxidante FRAP em cervejas jovens com extrato de cúrcuma (C), Extrato de Pimenta-do-reino (P) e Lúpulo (L).



O planejamento usado na avaliação das amostras armazenadas em garrafa proporcionou um valor de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,686. Conforme a superfície de resposta da Figura 12, pode-se afirmar que o mesmo efeito foi alcançado para a mistura terciária. Isto é, ocorreu um aumento no valor da capacidade antioxidante podendo ser explicado também pelo provável efeito sinérgico das especiarias. O modelo preditivo do planejamento é apresentado na Equação 09.

$$FRAP = (337,67 * C) + (316,67 * P) + (333,33 * L) + (-26,00 * P.C) + (-15,32 * L.C) + (32,00 * L.P) + (552,93 * L.P.C) \quad \text{Eq. (09)}$$

**Figura 12** - Região de combinação entre as variáveis para atividade antioxidante FRAP em cervejas envelhecidas com extrato de cúrcuma (C), Extrato de Pimenta-do-reino (P) e Lúpulo (L).



Os resultados encontrados nesse estudo são satisfatórios, pois fica em evidência que os extratos das especiarias, quando inseridos na bebida, apresentam um aumento da atividade antioxidante, que influencia diretamente o tempo de prateleira do produto, além de trazer aroma e sabor.

### 5.3 ANÁLISE SENSORIAL PERFIL *FLASH*

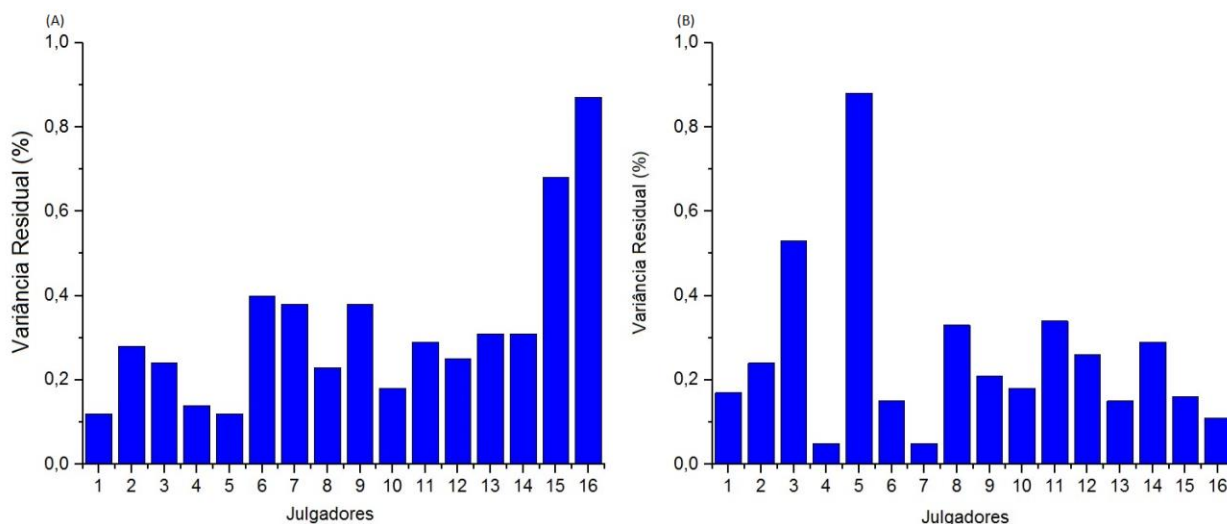
#### 5.3.1 Avaliação do Desempenho da Equipe

Para a descrição das amostras os julgadores utilizaram diferentes atributos, variando, em número, de 9 e 19 para as amostras jovens, e de 7 a 20, para as amostras envelhecidas.

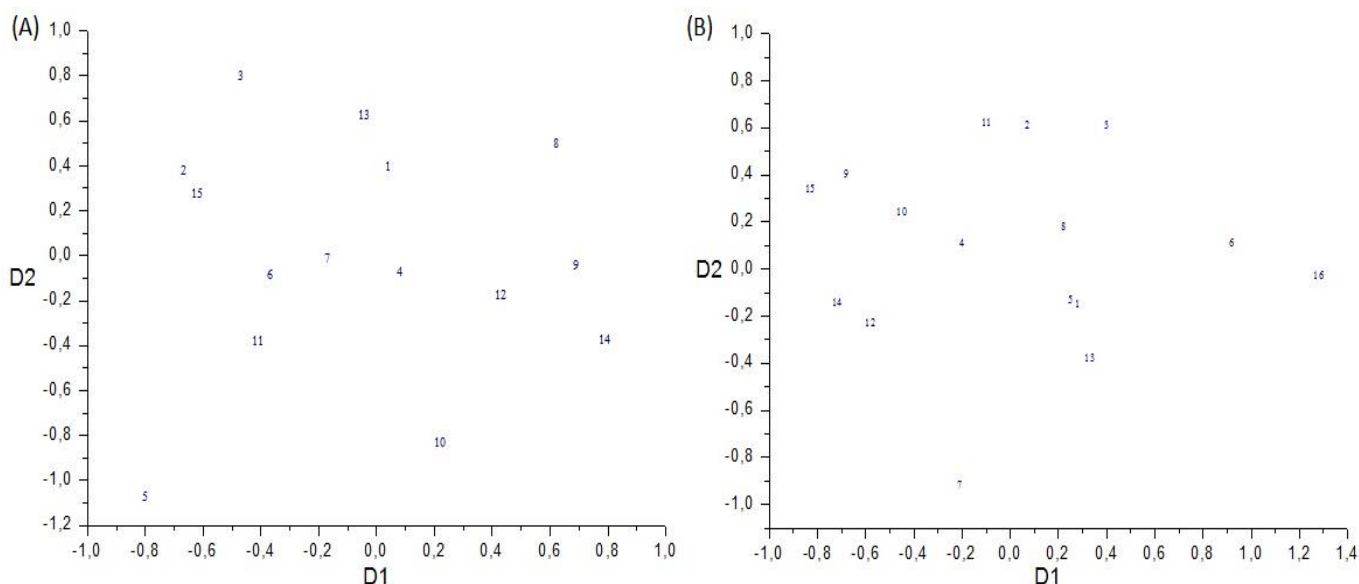
Numa avaliação da performance dos julgadores, verificou-se que houve um consenso entre os mesmos, o que pode ser confirmado pela baixa variância residual (inferior a 1 %) nas duas sessões, para uma solução bidimensional (Figura 13). Avaliando-se a configuração geral dos julgadores observou-se

pouca dispersão, indicando comportamento pouco diferenciado entre os membros da equipe (Figura 14).

**Figura 13** – Distribuição da variância residual dos julgadores na avaliação das amostras jovens (A) e envelhecidas (B).



**Figura 14** – Configuração geral dos julgadores na avaliação das amostras jovens (A) e envelhecidas (B).



O comportamento da equipe seguiu o padrão de outros trabalhos utilizando a metodologia de Perfil *Flash* para diferentes matrizes com bebidas comerciais à base de soja (TERHAAG e BENASSI, 2010), cafés solúveis comerciais (KOBAYASHI e BENASSI, 2012) e chocolates sem sacarose (REZENDE et al., 2014). O consenso observado na metodologia, bem como a

baixa variância residual, provavelmente se deve a facilidade do procedimento de ordenação das amostras ao invés do uso de escalas de intervalo. Destaca-se também a experiência prévia da equipe no consumo de cerveja e o uso de terminologia similar, devido à participação no grupo da Confraria.

### 5.3.2 Análise das Bebidas

Observou-se uma porcentagem de explicação alta (acima de 73%) nas duas avaliações (Tabela 07). Resultado similar ao relatado em bebida de soja de 76%, porém, com uma explicação menor do que os relatados em trabalhos de cafés solúveis e chocolates sem sacarose, superiores a 85%.

**Tabela 07** – Explicação (%) da solução bidimensional das amostras jovens e envelhecidas

Amostra	Dimensão	Consenso	Resíduo	Total
Jovem	D1	38,67	3,44	42,11
	D2	36,02	1,74	37,76
	Total	74,69	5,18	79,87
Envelhecida	D1	38,29	1,93	40,22
	D2	34,70	2,16	36,87
	Total	73,00	4,1	77,09

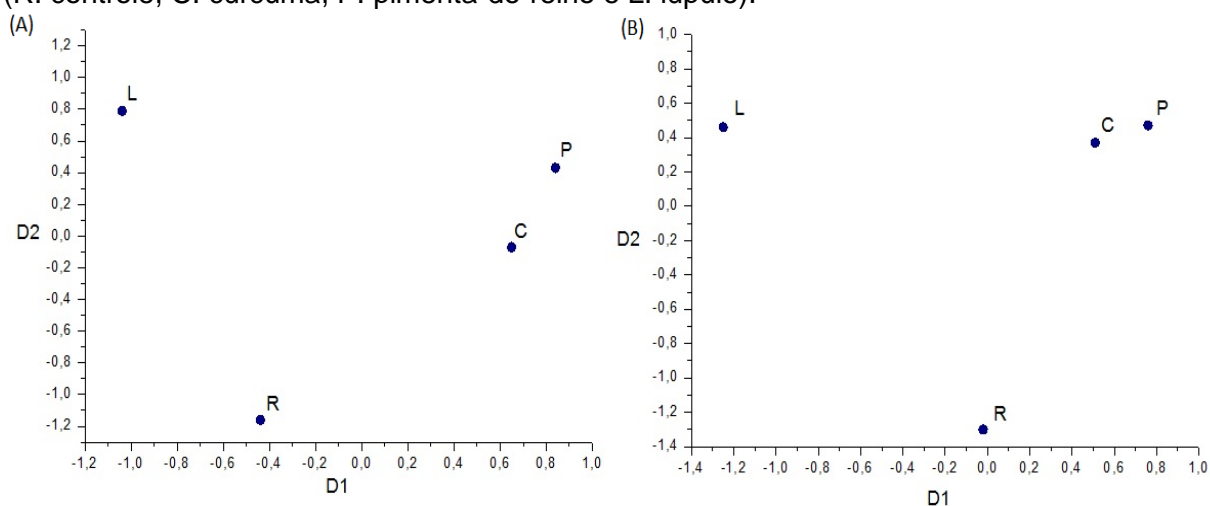
Nas configurações de consenso das cervejas jovens e envelhecidas pode-se observar uma boa discriminação sensorial entre as amostras (Figura 14). A boa caracterização obtida pela equipe pode ser confirmada pelas baixas variâncias residuais das amostras (Figura 15). A variância de consenso foi maior para a cerveja com lúpulo, seguida da amostra controle, e as cervejas com o uso de especiarias apresentaram menor consenso sendo a cúrcuma com o menor valor. Esse fato pode ter ocorrido pelo fato da cúrcuma ser uma especiaria pouco usual na utilização cervejeira, indicando dificuldades da equipe em discriminá-la.

Na descrição das amostras novas e envelhecidas foram utilizados 19 termos: cor acobreada/âmbar/avermelhada (todos os julgadores), turbidez (todos os julgadores), formação e retenção de espuma (todos os julgadores), aroma doce/maltado/caramelo (15 julgadores), aroma condimentado (14 julgadores), aroma de lúpulo (12 julgadores), aroma frutado (8 julgadores), aroma torrado/tostado (3 julgadores), sabor doce/maltado/caramelo (15 julgadores), sabor alcoólico (3 julgadores), sabor álcool superior (4 julgadores), sabor condimentado (todos os julgadores), sabor terroso (2 julgadores), sabor

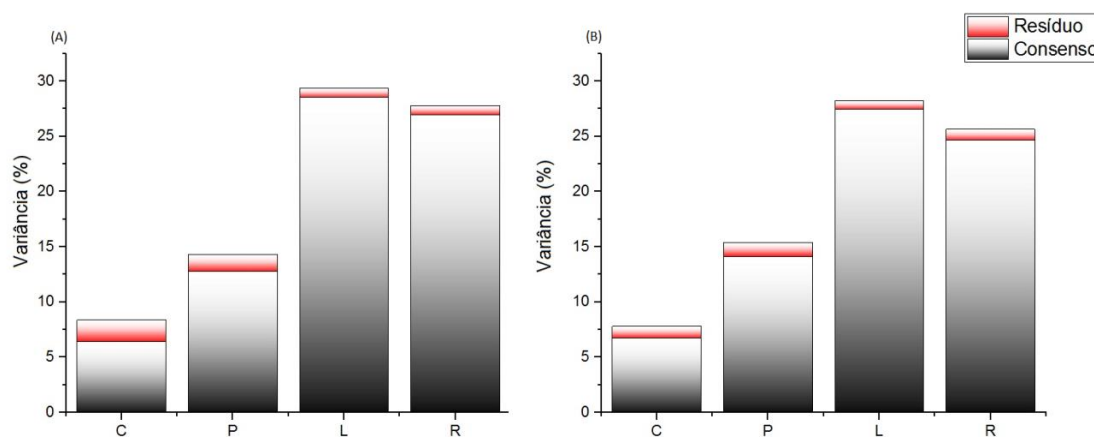
ácido (3 julgadores), sabor torrado/tostado (6 julgadores), sabor de lúpulo (6 julgadores), sabor picante (4 julgadores), carbonatação (todos os julgadores), corpo (todos os julgadores) e *drinkability* (todos os julgadores). O atributo sabor álcool superior e picante foram citados somente para as amostras novas enquanto que o sabor terroso só foram citados para as envelhecidas.

**Figura 15** – Configuração de consenso da solução bidimensional das amostras de cervejas jovens (A) e envelhecidas (B)

(R: controle, C: cúrcuma, P: pimenta-do-reino e L: lúpulo).



**Figura 16** – Distribuição de variância na solução bidimensional para as amostras jovens (A) e envelhecidas (B).



Na tabelas em anexo podem ser observados os atributos, para cada julgador, que apresentaram correlações em módulo superiores a 0,60 (Apêndices A e B) nas avaliações das amostras jovens e envelhecidas. Para interpretação dos gráficos de consenso (Figura 15), considerou-se atributos que apresentaram correlação significativa e que foram utilizados por vários julgadores para discriminação tanto das amostras novas como das envelhecidas.

Interessante observar que não houve similaridade entre os atributos utilizados para descrever as cervejas novas e envelhecidas, como também a configuração das amostras mudou pouco com o envelhecimento (Figura 16).

A dimensão 1 caracterizou-se de forma positiva pelos atributos formação de espuma, gosto amargo/amargor, *drinkability* e sabor picante e, na direção negativa, por turbidez, e aroma e sabor condimentado. A dimensão 2 foi correlacionada positivamente pelos atributos gosto amargo/amargor, aroma e sabor condimentado, aroma e sabor lúpulo, e negativamente por cor (acobreada/âmbar/avermelhada), sabor e aroma maltado/doce/caramelo e corpo (Apêndices A e B).

Dessa forma podemos observar que a cerveja controle jovem, alocada na parte inferior direita do gráfico, foi caracterizada pela formação de espuma, corpo e sabor e aroma maltado/caramelo/doce. As cervejas com cúrcuma e pimenta-do-reino foram caracterizadas como apresentando características semelhantes, e foram alocadas na parte superior direita do gráfico de consenso, destacando-se pelo maior amargor e aroma e sabor condimentado, sendo a cerveja com pimenta-do-reino descrita com o atributo sabor picante. A cerveja com lúpulo foi alocada na região superior esquerda do gráfico, sendo descrita como possuindo um gosto amargo/amargor, aroma e sabor de lúpulo, além de mais turva devido à presença dos polifenóis.

Considerando-se o tempo de envelhecimento, verificou-se que a cerveja controle teve sua configuração alterada, em comparação à amostra controle jovem, principalmente na dimensão 1, ficando descrita como mais turva e menos amarga, e ainda apresentando sabor e aroma maltado/caramelo/doce na medida que envelheceu. Cao et al. (2011) descrevem que, com o aumento no tempo de prateleira de cervejas, o amargor da bebida tende a diminuir, e também ocorre mudanças da estabilidade coloidal da bebida. O envelhecimento também provocou uma maior discriminação das cervejas de cúrcuma e pimenta (dimensão 2), sendo que a cerveja com cúrcuma foi descrita como mais colorida, apresentando menor aroma e sabor de condimentado depois de envelhecida, porém houve um ganho do sabor e aroma maltado/caramelo/doce, comparativamente à cerveja de cúrcuma jovem, devido a não pasteurização da amostra, pois durante a segunda fermentação em garrafa, uma série de reações

bioquímicas ocorrem, transformando o caráter e percepção da bebida (BAMFORTH, 2004; 2011; WHITE 2010).

Os atributos de cor utilizados nas duas sessões estão de acordo com aquelas utilizadas no guia de estilos (BJCP 2015), e são concordantes com as análises de cor apresentadas nesse trabalho. As amostras jovens e envelhecidas contendo os extratos de cúrcuma e pimenta-do-reino foram descritas como aquelas que possuíam maior *drinkability*. Segundo Oliver (2012) o *drinkability* é influenciado pelas características físico-químicas como amargor, densidade e carbonatação, e também pelos atributos sensoriais como retrogosto, sabor e aroma, de forma que a preferência pessoal tem um forte impacto sobre esse atributo. Observando os gráficos de consenso, as amostras que continham as especiarias apresentaram maior correlação. A formação e retenção de espuma se mostraram maior para as amostras que levaram especiarias, e segundo Bamforth (2011), as proteínas advindas das especiarias, colaboram com a estabilidade da espuma na cerveja. O amargor se mostrou maior para as amostras com lúpulo e pimenta-do-reino, corroborando com as análises de IBU realizadas nas cervejas.

## 6 CONCLUSÃO

Dentre os resultados do trabalho, obtiveram-se cervejas com adição de especiarias sem que estas influenciassem nos parâmetros físico-químicos que classificam o estilo *Red Ale*, com exceção do amargor. A pimenta-do-reino elevou o amargor das cervejas produzidas, e, em conjunto com o lúpulo, houve um aumento significativo no amargor. Ao olhar os atributos das dimensões 1 e 2 vemos que o lúpulo e a pimenta do reino estão enquadradas nas regiões de maior amargor. A cúrcuma também está nessa região, porém ela teve o menor consenso entre os julgadores, possivelmente devido à presença da pimenta-do-reino, cujo sabor mais característico pode vir a sobrepor o da cúrcuma.

A análise do comportamento das especiarias em relação à quantidade de polifenóis e suas atividades antioxidantes, possibilita observar que essas contribuíram de forma positiva, podendo ser um conservante e flavorizante natural para a bebida.

Os resultados possibilitaram a descrição das amostras por análise sensorial do tipo Perfil *Flash*, sendo a amostra controle descrita com sabor e aroma maltados, as cervejas que levaram lúpulo com amargor maior, sabor e aroma de lúpulo, e as cervejas que levaram especiarias com sabor e aroma condimentado, sendo a cerveja com pimenta-do-reino descrita com sabor picante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-SUTAN, I, S. **The Effect of Curcuma Longa (Turmeric) on Overall Performance of Broiler Chicken.** International Journal of Poultry Science, 5, 351 – 353, 2003.

ARON, P, M. SHELLHAMMER, T, H. **A Discussion of Polyphenols in Beer Physical and Flavour Stability.** Journal Institute of Brewing, 116, 369 – 380, 2010.

BAMFORTH, C, W. **125th Anniversary Review: The Non-Biological Instability of Beer.** Journal Institute of Brewing, 117, 488 – 497, 2011.

BAMFORTH, C, W. **Beer Health and Nutrition.** Oxford: Blackwell Publishing, 2004.

BAMFORTH, C, W. **Beer - Tap Into the Art and Science of Brewing.** New York: Oxford University Press, 2003.

BARBETTA, P. V. C. Physico-chemical and microbial analysis of Wheat Craft Beer added with Ginger (*Zingiberofficinale roscoe*). **Anais do V Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia.** Londrina, 2015.

BELTRAMELLI, M. Cervejas, **Brejas e Birras: Um Guia Completo Para Desmitificar a Bebida Mais Popular do Brasil,** São Paulo: Editora Leya, 2012.

BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM. **Style guidelines for beer, mead and cider.** 2015 edition. Disponível em: <[http://www.bjcp.org/docs/2015\\_Guidelines\\_Beer.pdf](http://www.bjcp.org/docs/2015_Guidelines_Beer.pdf)>. Acesso em: 19/jun/2016

BRAND-WILLIAMS, W. CUVELIER, M. E. BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** LWT - Food Science and Technology, 28, 25–30, 1995.

BRÁNYIK, T. VICENTE, A, A. DOSTÁLEK, P. TEIXEIRA, J, A. **A Review of Flavour Formation in Continuous Beer Fermentations.** Journal Institute of Brewing, 114, 3 – 13, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura (MAPA). **Informe sobre qualidade e segurança de bebidas.** 2001 Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/qualidade-seguranca-alimentos-bebidas/bebidas>, Acesso em: 18 Jul. 2015 (2001 ?).

BUCKOW, R. WEISS, U. HEINZ, V. KNORR, D. **Stability and Catalytic Activity of  $\alpha$ -Amylase From Barley Malt at Different Pressure–Temperature Conditions.** *Biotechnology and Bioengineering*, 97, 1 -11, 2007 (2006).

CARVALHO, D, O. CORREIA, A. LOPES, L. GUIDO, L, F. **Further insights into the role of melanoidins on the antioxidant potential of barley malt.** *Food Chemistry*, 160, 127 – 133, 2014.

CAO, L. ZHOU, G. GUO, P. LI, Y. **Influence of Pasteurising Intensity on Beer Flavour Stability.** *Journal Institute of Brewing*, 117(4), 587 – 582, 2011.

CERVBRASIL, **Anuário 2014.** Disponível no endereço: <http://cervbrasil.org.br/2014/12/cervbrasil-lanca-primeiro-anuario-setor-ervejeiro/>. Acessado em 02/04/2015.

CECILIO FILHO, A, B. SOUZA, R, J. BRAZ, L, T. TAVARES, M. **Cúrcuma: Planta Medicinal, Condimentar e de Outros Usos Potenciais.** *Ciência Rural*, 30, 171 – 175, 2000 (1998).

CHOLLET, S. LELIÈVRE, M. ABDI, H. VALENTIN, D. **Sort and beer: Everything you wanted to know about the sorting task but did not dare to ask.** *Food Quality and Preference*, n. 22, 507 – 520, 2011.

COCOLIN, L. CAMPOLONGO, S. GORRA, R. ROLLE, L. RANTSIOU, K. ***Saccharomyces cerevisiae* Biodiversity During the Brewing Process of an Artisanal Beer: Preliminary Study**, *Journal Institute of Brewing*, 117, 352 – 358, 2011.

DAIROU, V. SIEFFERMANN, J. M. **A comparasion of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the flash profile.** *Journal of Food Science*, Chicago, v.67, n.2, 826 – 834, 2002.

DAWID, C. HENZE, A. FRANK, O. GLABASNIA, A. RUPP, M. BÜNING, K. ORLIKOWSKI, D. BADER, M. HOFMANN, T. **Structural and Sensory Characterization of Key Pungent and Tingling Compounds from Black Pepper (*Piper nigrum* L.).** *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 60, 2884 – 2895, 2012.

DIJKSTERHUIS, G. B. GOWER, J. C. **The preference of generalized Procrustes analysis and allied methods.** *Food Quality and Preference*, Oxford, v.3, n.2, 67 – 87, 1991.

DVOŘÁKOVÁ, M. GUIDO, L. F. DOSTÁLEK, P. SKULILOVÁ, Z. MOREIRA, M, M. BARROS, A, A. **Antioxidant Properties of Free, Soluble Ester and Insoluble-Bound Phenolic Compounds in Different Barley Varieties and Corresponding Malts.** Journal Institute of Brewing, 114, 27 – 33, 2008.

EßLINGER, H. M. **Handbook of Brewing**, Weinheim, Wiley-VCH, 2009.

EDNEY, J, M.O'DONOVAN, J, T. TURKINGTON, T, K. CLAYTON, G, W. MCKENZIE, R. JUSKIW, P. LAFOND, G, P. BRANDT, S. GRANT, C, A. HARKER, K, N. JOHNSON, E. MAY, W. **Effects of seeding rate, nitrogen rate and cultivar on barley malt quality.** Journal of the Science of the Food and Agriculture, 92, 2672 – 2678, 2012.

ENARI, T, M. **One Hundred Years of Brewing Research.** Journal Institute of Brewing, 101, 3 -33, 1995.

ERTEN, H. TANGULER, H. ÇAKROZ, H. **The Effect of the Pitching Rate of Fermentation and Flavour Compounds in High Gravity Beers.** Journal Institute of Brewing. 113, 75–79, 2007.

EUMANN, M. SCHILDBACH, S. **Water Sources and Treatment in Brewing.** Journal Institute of Brewing, 118, 12 – 21, 2012.

**European Brewery Convention.** 2010. Analytica-EBC. Section 9 Beer Method 9.2.3, 9.3.5, 9.4, 9.6, 9.8, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany.

GIBSON, B, R. **Improvement of Higher Gravity Brewery Fermentation via Wort Enrichment and Supplementation.** Journal Institute of Brewing, 117, 268 – 284, 2011.

GORJANOVIĆ, S. PASTOR, F. T. VASIĆ, R. NOVAKOVIĆ, M. SIMONOVIĆ, M. MILIĆ, S. SUŽNJEVIĆ, D. **Electrochemical versus Spectrophotometric Assessment of Antioxidant Activity of Hops (*Humulus Lupulus L.*) Products and Individual Compounds.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61, 9089 – 9096, 2013.

GRANATO, D. BRANCO, G, F, FARIA, J, A, F. CRUZ, A, G. **Characterization of Brazilian lager and Brown ale beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics.** Journal Science of Food and Agriculture, 91, 563 – 571, 2011.

GUPTA, M. ABU-GAHNNAN, N. GALLAGHER, E. **Barley for Brewing: Characteristic Changes During Malting, Brewing and Applications of its By-Products.** *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 318 – 328, 2010.

FERREIRA, V. S.; MARTINS, P. K. B.; TRINDADE, J. L. F.; TOZETTO, L. M. **Produção de cerveja artesanal com gengibre.** In: 8° ENGENHARIA E TECNOLOGIA DOS CAMPOS GERAIS, 2013.

HE, Y. DONG, J. YIN, H. ZHAO, Y. CHEN, R. WAN, X. CHEN, P. HOU, X. LIU, J. CHEN, L. **Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer – A review.** *Journal Institute of Brewing*, n. 120, 157 – 163, 2014.

HERRMANN, M. KLOTZBÜCHER, B. WURZBACHER, M. HANKE, S. KATTEIN, U. BACK, W. BECKER, T. KROTTENTHALER, M. **A New Validation of Relevant Substances for the Evaluation of Beer Aging Depending on the Employed Boiling System.** *Journal Institute of Brewing*, 116, 41 – 48, 2010.

HYERONIMUS, S. **For the Love of hops: The Practical Guide to aroma, Bitterness and the Culture of Hops.** Colorado: Brewers Publication, 2012.

JIN, M, J. HAN, H, K. **Effect of Piperine , a Major Component of Black Pepper , on the Intestinal Absorption of Fexofenadine and Its Implication on Food-Drug Interaction.** *Journal of Food Science*, 75, 93 – 96, 2010.

KROGUERUS, K. GIBSON, B, R. **125th Anniversary Review: Diacetyl and its Control During Brewery Fermentation.** *Journal Institute of Brewing*, 119, 86–97, 2013.

KÜHBECK, F. DICKEL, T. KROTTENTHALER, M. BACK, W. MITZSCHERLING, M. DELGADO, A. BECKER, T. **Effects of Mashing Parameters on Mash  $\beta$ -Glucan, FAN and Soluble Extract Levels.** *Journal Institute of Brewing*, 111, 316 – 327, 2005.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting.** International Edition, Berlin, VLB-Berlin, 1999.

(KOBAYASHI E BENASSI, 2012)

LANGSTAFF, S. A. LEWIS, M, J. **The mouthfeel of beer – A review.** *Journal Institute of Brewing*, v. 99, 31 – 37, 1992 (1999 ?).

LI, X. GAO, F. CAI, G. JIN, Z. LU, J. DONG, J. YIN, H. YU, J. YANG, M. **Purification and characterization of arabinoxylan arabinofuranohydrolase I responsible for the filterability of barley malt.** Food Chemistry, v. 174, 286-290, 2015.

LINDSAY, R. C. Aditivos Alimentares. DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema.** 4. ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.

LIMA, L. BRANDÃO, T. LIMA, N. TEIXEIRA, J, A. **Comparing the Impact of Environmental Factors During Very High Gravity Brewing Fermentations,** Journal Institute of Brewing, 117, 359 – 367, 2011.

MALFLIET, S. GOIRIS, K. AERTS, G. COOMAN, L, D. **Analytical-sensory determination of potential flavour deficiencies of light beers.** Journal Institute of Brewing, n. 115, v. 2, 49 – 63, 2009.

McEWAN, J. A. **Comparasion of sensory panels: a ring trial.** Food Quality and Preference, v.10, n.3, 161 – 171, 1999.

MEEROV, Y. S.; KATYUZHANSKAYA, A. N. **Methods for the Instrumental Analysis of The Components of CO<sub>2</sub> Extract of *Piper Nigrum*.** Chemistry of Natural Compounds, 1973, n. 9, v. 2, 179-182.

MEILGAARD, M. C. CIVILLE, G. V. CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques.** Boca Raton: CRC Press, 3 ed., 1999, 387 p.

MEILGAARD, M. **Effects on Flavour of Innovations in Brewery Equipment and Process: A Review.** Journal Institute of Brewing, 107, 271 – 286, 2001.

MIEDANER, H. **Centenary Preview: Wort boiling today – Old and New Aspects.** Journal institute of Brewing, v. 92, 330 – 335, 1986.

MITIĆ, S, S. PAUNOVIĆ, D, D. PAVLOVIĆ, A, N. TOŠIĆ, S, B. STOJKOVIĆ, M, B. MITIĆ, M, N. **Phenolic Profiles and Total Antioxidant Capacity of Marketed Beers in Serbia.** International Journal of Food Properties, 17, 908 – 922, 2014.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja.** São Paulo: Editora Lafonte Ltda, 2009.

MURRAY, J. M. DELAHUNTY, C. M. BAXTER, I. A. **Descriptive sensory analysis; past, present and future.** Food Research, Oxford, v.34, n.6, 461 – 471, 2001

NEDOVIĆ, V. GIBSON, B. MANTZOURIDOU, T, F. BUGARSKI, B. DJORDJEVIĆ, V. KALUŠEVIĆ, A. PARASKEVOPOULOU, A. SANDELL, M. ŠMOGROVIČOVÁ, D. YILMAZTEKIN, M. **Aroma formation by immobilized yeast cells in fermentation processes.** Yeast, 32: 173–216, 2015.

NGUYEN, C, M. KIM, J, S. NGUYEN, T, N. KIM, S, K. CHOI, G, J. CHOI, Y, H. JANG, K, S. KIM, J, C. **Production of L- and D-lactic Acid from Waste Curcuma longa Biomass Through Simultaneous Saccharification and Cofermentation.** Bioresource Technology, 146, 35 – 43, 2013.

NIKOLIĆ, M. STOJKOVIĆ, D. GLAMOČLIJA, J. ĆIRIĆ, A. MARKOVIĆ, T. SMILJKOVIĆ, M. SOKOVIĆ, M. **Could essential oils of green black pepper be used as food preservatives?.** Journal Food Science and Technology, v. 52, n. 10, 6565-6573, 2015.

NIRANJAM, A. SINGH, S. DHIMAN, M. TEWARI, S. K. **Biochemical Composition of Curcuma Longa L. accessions.**Liquid Chromatography, 46, 1069 – 1083, 2013

OBOH, G. ADEMOSUN, A. O. ODUBANJO, O. V. AKIMBOLA, I, A. **Antioxidant Properties and Inhibition of Key Enzymes Relevant to Type-2 diabetes and Hypertension by Essential Oils from Black Pepper.**Advances in Pharmacological Sciences, 2013, 1 – 6, 2013.

OLIVEIRA, A. P. V. BENASSI, M. T. **Perfil livre: Uma opção para análise sensorial descritiva.** Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.37, 66 – 72 , 2003.

OLIVER, G. **The Oxford Companion to Beer**, New York: Oxford University Press, 2012.

OP & P PRODUCTS RESEARCH, **Senstools v2.3.** Utrech: OP & P Product Research, 1995

PALMER, J. KAMINSKI, C. **Water: A Comprehensive Guide for Brewers.** Colorado: Brewers Publication, 2013.

PARK, U, H. JEONG, H, S. JO, E, Y. PARK, T. YON, S, K.KIM, E ,J. JEONG, J, C. UM, S, J. **Piperine, a Component of Black Pepper, Inhibits Adipogenesis by Antagonizing PPAR $\gamma$  Activity in 3T3-L1 Cells.** Journal of Agriculture and Food Chemistry, 60, 3853 – 3860, 2012.

PIAZZON, A. FORTE, M. NARDINI, M. **Characterization of Phenolics Content and Antioxidant Activity of Different Beer Types.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58, 10677 – 10683, 2010.

PIRES, E, J. TEIXEIRA, J, A. BRÁNYIK, T. CÔRTE-REAL, M. VICENTE, A, A. **Maintaining Yeast Viability in Continuous Primary Beer Fermentation.**Journal Institute of Brewing, 120, 52 – 59, 2014.

PIRES, E, J. TEIXEIRA, J, A. BRÁNYIK, T. BRANDÃO, T. VICENTE, A, A. **Continuous Beer Fermentation – Dyacetil as a Villain.** The Institute of Brewing & Distilling, 121, 55 – 61, 2015.

REINOLD, M.R. 1997. **Manual Prático de Cervejaria.** São Paulo, Aden Editora, 103 p.

REZENDE, N. V. BENASSI, M. T. VISSOTTO, F. Z. AUGUSTO, P. C. GROSSMANN, M. V. E. **Misture design applied for the partial replacement of fat with fibre in sucrose-free chocolates.** LWT – Food Science and Technology, 30, 1 – 7, 2014.

RICHTER, V. B. **Proposing a ranking descriptive sensory method.** Food Quality and Preference, Oxford, v.21, n.6, 611 – 620, 2010

SANNA, V. PRETTI, L. Effect of wine barrel ageing or *sapa* addition on total polyphenol content and antioxidant activities of some Italian craft beers. International Journal of Food Science and Technology, v. 50, 700 – 707, 2015.

SHAIKH, J. BHOSALE, R. SINGHAL, R. **Microencapsulation of Black Pepper oleoresin.** Food Chemistry, 94, 105 – 110, 2006.

SCHÖNBERGER, C. KOSTELECKY, T. **The Role of Hops in Brewing.** Journal Institute of Brewing, 117, 259 – 267, 2011.

SIERKSMA, A. KOK, F, J. **Beer and Health: From Myths to Science.** European Journal of Clinical Nutrition, 66, 869 – 870, 2012.

SINGLETON, V. L. ROSSI, J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic - phosphotungstic acid reagent.** American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144–158, 1965.

SIQUEIRA, P, B. BOLINI, H, M, A. MACEDO, G, A. **O Processo de Fabricação da Cerveja e Seus Efeitos na Presença de Polifenóis,** Alimentos e Nutrição Araraquara, 19, 491 – 498, 2008.

SLEIMAN, M. VENTURINI FILHO, W, G. DUCATTI, C. NOJIMOTO, T. **Determinação do percentual de malte e adjuntos em cervejas comerciais brasileiras através de análise isotópica.** Ciênc. agrotec., Lavras , v. 34, n. 1, p. 163-172, Feb. 2010 .

STEINER, E. AUER, A. BECKER, T. GASTL, M. **Comparison of beer quality attributes between beers brewed with 100% barley malt and 100% barley raw material.** Journal of Science and Food Agriculture, v. 92, 803-813, 2012

STEWART, G, G. **The Horace Brown Medal Lecture: Forty Years of Brewing Research.** Journal Institute of Brewing, 115, 3–29, 2009

STEWART, G, G. HILL, A, E. RUSSELL, I. **125th Anniversary Review: Developments in brewing and distilling yeast strains.** Journal Institute of Brewing, 119: 202–220, 2013.

STONE, H. SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices.** 1.ed, London: Academic Press Inc., 2003, p. 311 (1998 ?)

STRAIL, P. BOŘIVOJ, K. KUBÁŇ, V. **Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables – Evaluation of Spectrophotometric Methods.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 607 – 616, 2006.

SUHAJ, M. RÁCOVÁ, J. POLOVKA, M. BREZOVÁ, V. **Effect of  $\gamma$ -irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.).** FoodChemistry, 97, 696 – 704, 2006.

SUETH-SANTIAGO, V. MENDES-SILVA, G, P. DECOTÉ-RICARDO, D. LIMA, M, E, F. **Curcumina, o pó do açafreão-da-terra: Introspecções sobre química e atividades biológicas.** Química Nova, 38(4), 538 – 552, 2015.

SZWAJGIER, D. **Dry and Wet Milling of Malt: A Preliminary Study Comparing Fermentable Sugar, Total Protein, Total Phenolics and the Ferulic Acid Content in Non-Hopped Worts.**Journal Institute of Brewing, 117, 569 – 577, 2011.

SZWAJGIER, D. BOROWIEC, K. **Phenolic Acids from Malt are Efficient Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitors.**Journal Institute of Brewing, 118, 40 – 48, 2012.

TAFULO, P, A, R. QUEIRÓS, R, B. DELERUE-MATOS, C, M. SALES, M, G, F. **Control and Comparison of the Antioxidant Capacity of Beers.** Food Research International, n. 43, 1702 – 1709, 2010.

TECHAKRIENGTAI, I. PATERSON, A. BEHNAM, T. PIGGOT, J, R. **Staling in two canned lager beers stored at different temperatures – Sensory analyses and consumer ranking.** Journal Institute of Brewing, n. 112, v. 1, 28 – 35, 2006.

TEIXEIRA, B, N. OZDENIR, N. HILL, L, A. GOMES, C, L. **Synthesis and Characterization of Nano-Encapsulated Black Pepper Oleoresin using Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin for Antioxidant and Antimicrobial Applications.** Journal of Food Science, 78, 1913 – 1920, 2013.

TERHAAG, M. M. BENASSI, M. T. (2010) **Perfil Flash: Uma Opção para Análise Descritiva Rápida**. Brazilian Journal of Food Technology 19-21, 140-151, 2010.

THAMKE, I. DÜRRSCHMID, K. ROHM, H. **Sensory description of dark chocolates by consumers**. LWT – Food Science and Technology, Oxford, v.42, n.2, 534 – 539, 2009.

TUORILA, H. MONTELEONE, E. **Sensory food science in the changing society: Opportunities, needs and challenges**. Trends in Food Science & Technology, v. 20, 54 – 62, 2009.

URBAN, J. DAHLBERG, C, J. CAROLL, B, J. KAMINSKY, W. **Absolute Configuration of Beer's Bitter Compounds**. AngewandtChemie, 125, 1593 – 1595, 2013.

VARELA, P. ARES, G. **Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization**. Food Research International, v. 48, 893 – 908, 2012.

VRIESEKOOOP, F. KRAHL, M. HUCKER, B. MENZ, G. **Bacteria in Brewing: The Good, the Bad and the Ugly**. Journal Institute of Brewing, 115, 208 – 213, 2012 (2009).

WEI, K. DAI, F. WU, F. ZHANG, W. **The Variation of  $\beta$ -Amylase Activity and Protein Fractions in Barley Grains as Affected by Genotypes and Post-anthesis Temperatures**. Journal Institute of Brewing, 118, 335 – 345, 2009 (2012).

WIETSTOCK, P. KUNZ, T, SHELLHAMMER, T. SCHÖN, T. METHNER, F, J. **Behaviour of Antioxidants Derived from Hops During Wort Boiling**. Journal Institute of Brewing, 116, 157– 166, 2010.

WHITE, C. ZAINASHEFF, J. **Yeast - The Practical Guide to Beer**. Colorado: Brewers Publication, 2010.

WU, M, J. ROGERS, P, J. CLARKE, F, M. **The Role of Proteins in Beer Redox Stability**. Journal Institute of Brewing, 118, 1– 11, 2012.

ZHAO, H. CHENA, W. LUB, J. ZHAO, M. (2010). **Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Commercial Beers**. Food Chemistry, 119, 1150 –1158, 2010.

## APÊNDICE A

J	D1	D2
1	Sabor condimentado (0,80), Sabor Picante (0,74), Sabor caramelo (-0,66), Sabor alcoólico (0,74), Amargor (-0,66), Corpo (-0,74)	Aroma frutado (-0,97), Aroma de lúpulo (0,82), Carbonatação (0,86), Drinkability (0,86)
2	Aroma de lúpulo (-0,66), Sabor de lúpulo (-0,97), Sabor picante (0,80), Sabor álcool superior (0,65), Sabor condimentado (0,92), Amargor (-0,97), Corpo (-0,66), Drinkability (-0,66)	Cor ambar (-0,82), Translucidez (-0,82), Aroma de malte (-0,82), Aroma frutado (-0,63), Sabor de malte (-0,97), Sabor doce (-0,97), Carbonatação (-0,97)
3	Translucidez (-0,97), Retenção de espuma (0,66), Aroma condimentado (0,97), Aroma de lúpulo (-0,66), Sabor caramelo (-0,66), Sabor alcoólico (-0,97)	Aroma caramelo (-0,82), Sabor torrado (-0,97), Sabor de lúpulo (0,82), Sabor condimentado (0,97), Sabor avinagrado (-0,82), Amargor (0,82), Carbonatação (0,82), Corpo (-0,97), Drinkability (0,97)
4	Retenção de espuma (0,97), Formação de espuma (0,80), Aroma de malte (0,80), Sabor picante (0,80), Carbonatação (0,97), Corpo (-0,92), Aroma condimentado (0,74)	Cor cobre (-0,63), Aroma de lúpulo (0,82), Sabor caramelo (-0,82), Amargor (0,97), Drinkability (-0,97)
5	Cor ambar (-0,92), Translucidez (0,66), Aroma condimentado (-0,92), Aroma amaderado (-0,92), Aroma de lúpulo (0,97), Sabor torrado (-0,92), Sabor picante (0,97), Sabor condimentado (0,92), Sabor maltado (-0,92), Amargor (-0,92), Corpo (-0,92), Acidez (0,92)	Aroma frutado (-0,82), Drinkability (0,82)
6	Formação de espuma (0,74), Retenção de espuma (0,74), Aroma condimentado (0,74), Sabor condimentado (0,74), Sabor de lúpulo (0,92), Amargor (-0,66), Carbonatação (-0,66)	Aroma de lúpulo (0,63), Aroma maltado (-0,63), Sabor maltado (-0,63), Drinkability (0,82)
7	Retenção de espuma (0,66), Formação de espuma (0,66), Aroma alcoólico (-0,74), Aroma condimentado (0,74), Sabor maltado (0,74), Sabor picante (0,97), Sabor torrado (-0,66), Sabor condimentado (0,74), Carbonatação (0,92), Corpo (0,80), Drinkability (0,92)	Aroma de lúpulo (0,97), Aroma maltado (-0,86), Sabor álcool superior (-0,75), Sabor de lúpulo (0,97)
8	Formação de espuma (-0,80), Aroma de lúpulo (0,97), Aroma condimentado (0,80), Sabor tostado (0,80), Sabor de lúpulo (0,66), Sabor Picante (-0,80), Sabor condimentado (0,80), Amargor (-0,66), Carbonatação (-0,80)	Cor ambar (-0,97), Turbidez (-0,82), Retenção de espuma (0,86), Aroma maltado (-0,86), Aroma toffe (-0,86), Aroma frutado (-0,63), Aroma tostado (-0,86), Sabor frutado (-0,86), Corpo (-0,97), Drinkability (-0,82)
9	Formação de espuma (0,92), Retenção de espuma (0,92), Aroma condimentado (-0,80), Aroma de lúpulo (0,97), Sabor picante (0,80), Sabor de lúpulo (-0,66), Amargor (-0,97), Drinkability (0,92)	Cor ambar (-0,97), Sabor maltado (-0,86), Sabor condimentado (0,86), Sabor frutado (-0,86), Sabor álcool superior (0,77), Corpo (-0,63), Carbonatação (-0,97)
10	Translucidez (0,97), Aroma caramelo (0,74), Aroma torrado (0,80), Aroma de lúpulo (-0,97), Aroma condimentado (0,80), Aroma álcool superior (-0,79), Sabor caramelo (0,80), Drinkability (0,80)	Cor cobre escuro (-0,63), Formação de espuma (0,63), Retenção de espuma (0,63), Sabor torrado (-0,86), Sabor picante (0,86), Amargor (0,97), Corpo (-0,97), Carbonatação (-0,97)

- Formação de espuma (0,97), Retenção de espuma (0,97), Aroma de lúpulo (-0,92), Aroma torrado (0,92), Aroma condimentado (0,74), Aroma frutado (-0,74), Sabor condimentado (0,74), Sabor picante (0,80), Sabor torrado (0,80), Sabor terroso (0,92), Amargor (-0,97), Corpo (-0,97), Carbonatação (0,97), Drinkability (0,97)
- 11** Turbidez (-0,92), Formação de espuma (0,92), Aroma picante (0,97), Aroma mentolado (0,92), Amargor (-0,92), Drinkability (-0,80)
- 12** Turbidez (-0,8), Aroma mentolado (0,92), Aroma toffe (-0,80), Sabor picante (0,97), Sabor herbal (-0,92), Sabor terroso (0,80), Carbonatação (-0,80), Drinkability (-0,74)
- 13** Aroma condimentado (0,74), Sabor condimentado (0,74), Corpo (0,80), Drinkability (0,80)
- 14** Sabor picante (0,8), Sabor condimentado (0,92), Amargor (-0,97), Corpo (0,80)
- 15** Cor ambar escuro (-0,97), Turbidez (-0,63), Aroma doce (-0,82)
- 16** Cor cobre avermelhado (-0,97), Turbidez (-0,97), Sabor maltado (-0,82)
- Cor acobreado marrom (-0,63), Aroma caramelo (-0,82), Aroma de lúpulo (0,82), Sabor toffe (-0,82), Carbonatação (0,97), Corpo (-0,82)
- Aroma de lúpulo (0,82), Aroma frutado (-0,82), Sabor doce (0,86), Sabor álcool superior (0,80), Corpo (0,97)
- Formação espuma (0,97), Aroma maltado (-0,82), Aroma frutado (-0,82), Sabor maltado (-0,82), Sabor frutado (-0,82), Retrogosto(0,86), Carbonatação(0,86)
- Cor ambar (-0,97), Translucidez (0,63), Carbonatação (-0,97)
- Aroma condimentado (0,80), Sabor caramelo (-0,92), Amargor (0,66)

## APÊNDICE B

J	D1	D2
1	Turbidez (-0,95), Aroma frutado (-0,88), Gosto amargo (0,65), Carbonatação (-0,65), Corpo (0,95)	Cor acobreada (-0,75), Formação de espuma (-0,75), Retenção de espuma (-0,75), Aroma doce (-0,80), Aroma álcoolico (0,80), Aroma de lúpulo (0,80), Sabor maltado (-0,77), Sabor condimentado (-0,75)
2	Cor ambar claro (0,95), Aroma caramelo (-0,65), Aroma doce (-0,65), Sabor doce (-0,88), Sabor condimentado (0,88), Sabor ácido (-0,95), Carbonatação (0,95), Corpo (0,95)	Turbidez (-0,77), Retenção de espuma (0,80), Aroma de lúpulo (0,80), Aroma condimentado (0,77), Drinkability (0,77)
3	Retenção de espuma (0,65), Cor da espuma branca/bege (-0,95), Aroma de lúpulo (-0,95), Aroma torrado (-0,65), Aroma doce (-0,65), Aroma defumado (0,95), Sabor de lúpulo (0,95), Sabor álcoolico (-0,88), Sabor caramelo (-0,65), Sabor defumado (0,95), Sabor torrado (-0,65), Carbonatação (0,77), Drinkability (0,79)	Cor vermelho escuro (-0,80), Turbidez (0,80), Formação de espuma (-0,75), Aroma caramelo (-0,80), Aroma álcoolico (0,78), Gosto amargo (0,77)
4	Cor acobreada (0,88), Formação de espuma (0,79), Aroma condimentado (0,95), Aroma de oxidação (0,88), Sabor álcoolico (0,88), Sabor ácido (-0,95)	Turbidez (0,78), Gosto amargo (0,77), Sabor de lúpulo (0,77), Sabor doce(-0,80), Sabor condimentado (0,78)
5	Turbidez (-0,88), Aroma torrado (-0,79), Aroma condimentado (0,88), Sabor torrado (-0,95), Gosto amargo (0,65)	Cor ambar (0,75), Formação de espuma (0,77), Aroma caramelo (-0,80), Aroma de lúpulo (0,80), Sabor ácido (-0,78), Sabor condimentado (0,75), Corpo (0,75), Drinkability (0,80)
6	Cor ambar (0,65), Retenção de espuma (0,88), Formação de espuma (-0,88), Aroma de lúpulo (0,95), Sabor álcoolico (0,95), Carbonatação (0,65)	Aroma maltado (-0,75), Aroma maltado (-0,75), Aroma picante (0,78), Aroma condimentado (0,78), Sabor picante (0,80), Sabor condimentado (0,75), Sabor maltado (-0,80), Sabor de lúpulo (0,80), Corpo (-0,80), Drinkability (-0,78)
7	Cor acobreado escuro (0,95), Gosto amargo (0,88)	Retenção de espuma (-0,75), Formação de espuma (-0,75), Aroma maltado (-0,74), Aroma álcoolico (0,74), Aroma condimentado (0,78), Aroma de lúpulo (0,77), Sabor condimentado (0,78), Sabor maltado (-0,80), Corpo (0,77), Drinkability (-0,74)
8	Cor acobreado vermelho (0,88), Formação de espuma (0,88), Retenção de espuma (0,88), Aroma condimentado (0,88), Gosto amargo (0,79), Sabor doce (-0,65), Sabor condimentado (-0,95), Corpo (-0,88)	Turbidez (-0,75), Aroma maltado (-0,80), Aroma álcoolico (-0,80), Aroma frutado (-0,80), Aroma de lúpulo (0,77), Sabor maltado (-0,80), Sabor torrado (-0,80), Sabor de lúpulo (0,77), Sabor frutado (-0,80), Carbonatação (-0,75)
9	Turbidez (-0,65), Aroma condimentado (-0,95), Aroma de lúpulo (0,79), Sabor condimentado (-0,79), Sabor de lúpulo (0,79), Corpo (0,79), Drinkability (0,79)	Cor ambar (0,80), Retenção de espuma (0,77), Aroma doce (-0,80), Aroma frutado (-0,78), Gosto amargo (0,77), Carbonatação (-0,78)
10	Cor ambar (0,79), Turbidez (-0,95), Retenção de espuma (0,95), Aroma de lúpulo (0,95), Carbonatação (-0,95), Drinkability (0,95)	Aroma caramelo (-0,80), Aroma condimentado (0,75), Sabor maltado (-0,80), Gosto amargo (0,77), Sabor de lúpulo (-0,77), Sabor adstringente (0,77), Sabor condimentado(0,78), Corpo (-0,80)

<b>11</b>	Formação de espuma (-0,88), Retenção de espuma (0,65), Drinkability (0,65)	Turbidez (-0,74), Aroma aléoolico (-0,74), Sabor condimentado (0,75), Aroma de lúpulo (0,77), Aroma frutado (-0,74), Sabor aléoolico (-0,80), Gosto amargo (0,77), Sabor torrado (0,80), Sabor ácido (-0,78), Sabor picante (0,80), Sabor condimentado (0,75), Carbonatação (-0,74), Corpo (0,80)
<b>12</b>	Carbonatação (0,95), Formação de espuma (0,79)	Cor acobreado marrom (0,77), Turbidez (0,77), Retenção de espuma (0,74), Aroma picante (0,78), Aroma condimentado (0,75), Aroma de lúpulo (0,77), Aroma doce (-0,80), Sabor doce (-0,80), Gosto amargo (0,77), Sabor picante (0,78)
<b>13</b>	Aroma maltado (0,95)	Cor acobreado (-0,78), Turbidez (-0,78), Formação de espuma (0,77), Aroma condimentado (0,75), Aroma ácido (-0,78), Sabor condimentado (0,75), Sabor maltado (-0,78), Sabor picante (0,78), Sabor doce (-0,80), Gosto amargo (0,80), Corpo (-0,78)
<b>14</b>	Cor ambar (-0,95), Turbidez (0,79), Formação de espuma (0,79)	Aroma condimentado (0,80), Aroma maltado (-0,77), Sabor condimentado (0,80), Sabor maltado (-0,74), Gosto amargo (0,77), Corpo (-0,75), Drinkability (0,77)
<b>15</b>	Cor ambar escuro (0,79), Gosto amargo (0,79), Corpo (0,79), Carbonatação (0,79), Drinkability (0,95)	Turbidez (0,78), Formação de espuma (0,77), Sabor condimentado (0,78), Sabor aléoolico (0,77)
<b>16</b>	Cor cobre (-0,65), Turbidez (-0,65), Formação de espuma (-0,65), Gosto amargo (0,65)	Sabor condimentado (0,80), Aroma doce (-0,75), Corpo (0,75), Carbonatação (0,78), Drinkability (-0,78)

## APÊNDICE C

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Perfil Flash

#### “Produção de cerveja artesanal estilo *Red Ale* com adição de especiarias”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa “Produção de cerveja artesanal estilo *Red Ale* com adição de especiarias”, a ser realizada em no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos/UEL, Londrina-Paraná. O objetivo da pesquisa é avaliar sensorialmente as formulações de cerveja do estilo *Red Ale* com diferentes especiarias. O participante deverá ser consumidor de cerveja e não apresentar restrição ao consumo de glúten, açafrão e pimenta do reino. Informamos que serão servidas 4 amostras de fabricação artesanal, com teor alcoólico de 5 a 6%, num total de até 400 mL. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma, você participará como integrante de uma equipe que vai consumir a cerveja e será solicitado a dar sua opinião sobre os produtos conforme for solicitado. A bebida será servida na forma gelada; a análise levará em torno de 45 minutos ou mais dependendo do teste, e você poderá realizá-la no horário em que tiver maior disponibilidade. Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa (ou para esta e futuras pesquisas) e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

Os benefícios esperados são desenvolver uma formulação nova de cerveja que possa vir a agradar o consumidor.

Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar Profa. Dra. Wilma Spinosa, DCTA/UEL, wilma.spinosa@gmail.com, (43) 3371-4585

DCTA/UEL, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

Londrina, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_.

**Pesquisador Responsável**

RG:: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ (NOME POR EXTENSO DO SUJEITO DE PESQUISA), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_