Centro Universitário do Planalto Central Apparecido dos Santos - UNICEPLAC
Curso de Farmácia
Trabalho de Conclusão de Curso

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ESTIRPES DA *Saccharomyces cerevisiae* NA FERMENTAÇÃO DA CERVEJA

Gama-DF
2021

William Faria Antônio

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ESTIRPES DA *Saccharomyces cerevisiae* NA FERMENTAÇÃO DA CERVEJA

Artigo apresentado como requisito para conclusão do curso de Bacharelado em Farmácia pelo Centro Universitário do Planalto Central Apparecido dos Santos – Uniceplac.

Orientador (a): Profª. Dra. Ana Elisa Barreto Matias
Co-Orientador (a): Prof.ªEsp. João Marcos T. do Nascimento Mendes

Gama-DF

2021

William Faria Antônio

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ESTIRPES DA *Saccharomyces cerevisiae* NA FERMENTAÇÃO DA CERVEJA

Artigo apresentado como requisito para conclusão do curso de Bacharelado em Farmácia pelo Centro Universitário do Planalto Central Apparecido dos Santos – Uniceplac.

Gama, 16 de julho de2021.

Banca Examinadora

Profª. Dra. Ana Elisa Barreto Matias
Orientador

Prof.ªEsp. João Marcos T. do Nascimento Mendes
Examinador

Prof. Dra.Lizia Lenza Campos
Examinador

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES ESTIRPES DA *Saccharomyces cerevisiae* NA FERMENTAÇÃO DA CERVEJA

William Faria Antônio[1]

Resumo:

A cerveja é uma das bebidas mais populares e consumidas no mundo. Os vários estilos de cervejas que existem baseiam-se em combinações de processamentos, ingredientes e fatores culturais. Apesar da levedura desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento sensorial da cerveja, a fermentação é realizada por uma variedade limitada de cepas de leveduras, a maioria delas pertence ao gênero *Saccharomyces cerevisiae.* O objetivo principal desse trabalho foi analisar as características físico-químicas e identificar as diferenças organolépticas da cerveja artesanal fermentada com a utilização de diferentes estipes da levedura. Foram selecionadas duas leveduras comerciais (A e B) para *Saccharomyces cerevisiae* seca WB-06 e fermento de pão (*Saccharomyces cerevisiae* e emulsificante), respectivamente. As análises físico-químicas foram realizadas 15 dias após a produção, nas quais, as cervejas desenvolvidas experimentalmente foram comparadas por meio de análises de pH, teor alcoólico, densidade e turbidez. As análises organolépticas (cor, sabor, aroma, aprovação e possíveis defeitos) foram avaliadas através de formulário eletrônico. Para os atributos da análise sensorial, o índice de aceitação da cerveja A foi de 70% enquanto da cerveja B foi de 90% entre os 30 participantes. Nas análises físico-químicas, ambas as cervejas apresentaram uma densidade menor do que a cerveja de referência *hoegaarden*. A cerveja A apresentou melhores características como concentração de espuma, aroma, cor e refrescância quando comparada com a cerveja B.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*. Levedura. Fermentação. Cerveja artesanal. Industria Cervejeira.

[1] William Faria Antôniodo Curso Farmácia , do Centro Universitário do Planalto Central Apparecido dos Santos– Uniceplac. E-mail: williamfariaantonioo@gmail.com.

Abstract:

Beer is one of the most popular and consumed beverages in the world. The various styles of beers that exist are based on combinations of processing, ingredients and cultural factors. Although yeast plays a fundamental role in the sensory development of beer, fermentation is carried out by a limited variety of yeast strains, most of them belonging to the genus Saccharomyces cerevisiae. The main objective of this work was to analyze the physicochemical characteristics and identify the organoleptic differences of craft beer fermented using different strains of yeast. Two commercial yeasts (A and B) were selected for Saccharomyces cerevisiae dry WB-06 and bread yeast (Saccharomyces cerevisiae and emulsifier), respectively. The physical-chemical analyzes were carried out 15 days after production, in which the experimentally developed beers were compared by analyzing pH, alcohol content, density and turbidity. Organoleptic analyzes (color, flavor, aroma, approval and possible defects) were evaluated using an electronic form. For the sensory analysis attributes, the acceptance rate for beer A was 70% while for beer B it was 90% among the 30 participants. In the physicochemical analyses, both beers had a lower density than the reference beer hoegaarden. Beer A had better characteristics such as foam concentration, aroma, color and freshness when compared to beer B.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae.* Yeast. Fermentation. Craft Beer. Brewery Industry.

1. INTRODUÇÃO

Há cerca de 30 mil anos o homem começou a consumir bebidas fermentadas. Acredita-se que a cerveja tenha sido descoberta de forma empírica juntamente com a fermentação dos cereais, sendo usada como forma de alimento e até mesmo no desjejum (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

Define-se cerveja como a bebida obtida através da fermentação alcoólica do mosto cervejeiro derivado do malte de cevada e água, por ação da levedura, com adição de lúpulo e outros ingredientes (ROSA; AFONSO, 2015).

As cervejas são classificadas em dois tipos: *lager* que são de baixa fermentação e *ale* de alta fermentação. Cervejas do tipo *lager* são fermentadas a temperaturas entre 3,3ºC a 13°C, devido às baixas temperaturas apresentam sabor e aroma mais leves. Em cervejas do tipo *ale*, cuja fermentação ocorre a temperatura entre 16 a 25°C, as leveduras se elevam à superfície ao final da fermentação formando uma película flutuante (REBELLO, 2009).

Não há uma classificação definitiva para os estilos de cerveja existentes, que variam segundo cada país e suas tradições no consumo desta bebida. Existem quatro escolas cervejeiras, alemã, americana, inglesa e belga, cada uma contém características específicas no processo de fabricação (ECONOMOU et al., 2012).

A Witbier é um estilo de cerveja belga fabricada com malte de cevada e trigo, condimentada com casca de laranja e coentro. Algumas variações podem incluir aveia, limão siciliano, gengibre e pimenta em grãos. Possuem tom dourado pálido. Seu aroma e seu sabor são cítricos, sendo uma cerveja de característica refrescante (VOGEL, 2017).

O processo de fabricação de cerveja envolve várias etapas. Inicia-se pela maltagem que envolve a germinação[2] e secagem da cevada, convertendo em malte. Seguido da moagem que

[2]Germinação é o processo pelo qual o organismo cresce a partir de uma semente ou estrutura semelhante (SILVA et al., 2017).

reduz o tamanho dos grãos, possuindo grande valor na transformação físico-química do produto (SANTOS, 2019).

A mosturação envolve três etapas: a pastagem responsável por quebrar os componentes da parede celular do malte liberando o amido, a separação para remoção das partículas sólidas e a ebulição, na qual adicionam-se os lúpulos de amargor e de aroma (SANTOS, 2005).

O processo de fermentação inicia-se pela inoculação do mosto. Nesta fase a levedura inoculada vai utilizar os nutrientes presentes para seu crescimento, convertendo-o em cerveja. Após a adição do fermento, inicia-se a fermentação alcoólica. A cerveja se torna um subproduto da atividade metabólica da levedura, exigindo condições de fermentação que possibilitem o crescimento controlado (ECONOMOU et al., 2012).

Leveduras são organismos eucariontes com uma grande diversidade quanto à cor, tamanho e forma. São fungos unicelulares, e sua reprodução ocorre por fissão binária ou brotamento e algumas podem ser dimórficos ou bifásicos. Conhecidas por ter diferentes cepas específicas para cada função como destilaria, panificação, produção de extratos de leveduras (KAMINSKI, 2013).

*Saccharomyces cerevisia*e é a levedura mais estudada. Sua morfologia oval, cilíndrica ou elipsoidal, ocorre individual ou em pares, formam pequenas cadeias ou aglomerados. São leveduras heterotróficas, pois obtêm energia da glicose e apresentam grande capacidade fermentativa (CASTELLARI, 2004).

O genoma atual da *Saccharomyces cerevisiae* contém (ADH1 e ADH2) dois álcoois desidrogenase que surgiram através da duplicação de um ancestral bifuncional. Possuem ação cinética diferentes: a ADH2 se liga ao etanol mais fortemente enquanto a ADH1 o converte em acetaldeído. A análise do comportamento cinético da enzima ancestral ADH demonstrou uma baixa afinidade pelo etanol. A duplicação do gene facilitou o surgimento de um álcool desidrogenase com grande afinidade pelo etanol que poderia converter o etanol em acetaldeído (VOORDECKERS; VERSTREPEN, 2015). Essa levedura é muito valorizada na indústria da

fermentação, pois apresenta características interessantes como: rápida fermentação, produção e tolerância a grandes quantidades de etanol, degradação completa dos açúcares, capacidade de utilização de mono-di-tri sacarídeos, formação de compostos aromáticos e sabor em quantidades desejadas e moderadas (WALKER; STEWART, 2016).

Os processos fermentativos podem apresentar variações em seus rendimentos como: condições do meio de fermentação, qualidade do substrato e estado fisiológico do microrganismo. As enzimas e metabólitos gerados no processo diferem entre as leveduras, determinando o sabor do produto (SANTOS, 2005).

Em virtude dos fatos apresentados conclui-se que a cerveja é uma fonte química complexa que resulta de várias reações químicas e metabólicas, decorrentes da interação da levedura com os compostos presentes no mosto (GARCIA, 2017).

O presente trabalho tem como objetivo analisar as características físico-químicas e identificar as diferenças organolépticas da cerveja artesanal fermentada com a utilização de duas estipes da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A história da cerveja encontra-se ligada à história da humanidade. A partir do momento que as populações nômades começaram a formar pequenos grupos sedentários[3], surgiu a necessidade de domesticação e armazenamento de culturas horto frutícolas. O armazenamento de cereais promoveu a descoberta da fermentação e o homem observando essa técnica criou meios para adquirir vantagens desse fenômeno (WILLAERT, 2012).

Na idade média as mulheres assumiram a produção de cerveja pois serviam como fonte de alimento para toda a família, sendo servida no desjejum (SILVA et al., 2008).

Tempos mais tarde, a cerveja chegou ao Egito e nesse país passou a ter variedades. Os egípcios divulgaram a cerveja entre os povos orientais e entre o mediterrâneo e de lá para o resto da Europa (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

Os romanos tiveram contato com a arte da produção da cerveja com os gregos, que por sua vez, aprenderam a fabricação com a tradição dos egípcios. Os romanos utilizavam o vinho, por ser a bebida dos deuses. Após a queda do império romano, a cerveja retomou o lugar de bebida soberana na Europa, devido à ocupação de tribos germânicas, nas quais a cerveja era a bebida de eleição (WILLAERT, 2012).

Na antiguidade o vinho era servido para as classes mais nobres sendo a cerveja a bebida dos pobres. A descoberta e o desenvolvimento das técnicas de fabricação da cerveja representam um grande marco tecnológico para a humanidade (CABRAS; HIGGINS, 2016).

Os monges foram apurando as técnicas e melhorando consideravelmente suas cervejas, com complexidade nos aromas e sabores. Com o passar do tempo as cidades foram se desenvolvendo e incentivando o crescimento das cervejarias em uma escala industrial (PERSYN; SWINNEN; VANORMELINGEN, 2012).

[3]O homem aprendeu a cultivas plantas e raízes deixando de ser nômades tornando-se definitivamente sedentários (SÁ, 2001).

2.1 A cerveja

Define-se cerveja como uma bebida produzida a partir de cereais como o trigo, milho e cevada, incluindo em seu preparo água potável, lúpulo e leveduras, através da fermentação alcóolica. A diferença entre os tipos de maltes é a temperatura de secagem (ROSA; AFONSO, 2015).

Não há uma classificação definitiva para os estilos de cerveja existentes, que variam de cada país e de suas tradições no consumo desta bebida. Em 1977 foi elaborada a primeira classificação vigente pelo jornalista inglês Michael Jackson, que se tornou uma grande referência para o mundo, através do livro "*The World GuideToBeer*" (DELIBERALLI, 2015).

2.2 Composição da cerveja

2.2.1 Água

Água é o principal ingrediente da cerveja, e de tal forma importante que as várias composições da água estão na origem do surgimento de variados tipos de cerveja conforme sua região de produção. Como o produto da fermentação e maturação temos a cerveja que é composta por 90% de água (ECONOMOU et al, 2012).

A água utilizada no processo da fabricação da cerveja deve ser potável, livre de impurezas e microrganismos patogênicos. Entretanto, o tratamento da água abrange a inocuidade microbiológica, física e química, tendo que ajustar frequentemente a composição e concentração dos íons minerais conforme o estilo da cerveja (WILLAERT, 2012).

2.2.2 Malte

O malte pode ser obtido através da cevada, logo após a colheita e armazenado em silos com condições favoráveis. Para que esses grãos virem malte é preciso que estejam em condições adequadas de germinação (malteação), na qual controla-se temperatura, umidade e aeração,

lembrando que se deve parar o processo de germinação, pois ao contrário pode haver a formação de novas plantas (VENTURINI FILHO, 2016).

O malte irá influenciar na cor, sabor e aroma da cerveja, essas propriedades são desenvolvidas durante a fase de secagem na última etapa do processo de maltagem do grão. Entre as reações que irão conduzir à formação destacam-se: reações de *Maillard*[4], caramelização de açúcares e degradação de proteínas, compostos fenólicos e lipídeos (FRIEDT, 2010).

2.2.3 Lúpulo

O lúpulo (Figura 1) utilizado na fabricação de cervejas é descrito como uma trepadeira perene, que produz flores ricas em resinas (que conferem o amargor), polifenóis (com suas propriedades antioxidantes) e óleos essenciais (conferindo o aroma). Através do lúpulo que se obtém o sabor característico, essencial para o impacto organoléptico, estabilidade do sabor e retenção da espuma (DURELLO; SILVA; BOGUSZ, 2019).

O lúpulo, tem características conservantes, além disso, é um antimicrobiano natural (biocinas) que é extraída da flor do lúpulo, usada para controle de microrganismos e contaminantes da fermentação. Os ácidos do lúpulo interferem no transporte de metabólitos e modificam o pH intracelular, o que provoca a morte das bactérias (MCADAM et al., 2014).

[4]Reação de *Maillard* é uma reação química entre um aminoácido e um carboidrato redutor (FRANCISQUINI et al., 2017).

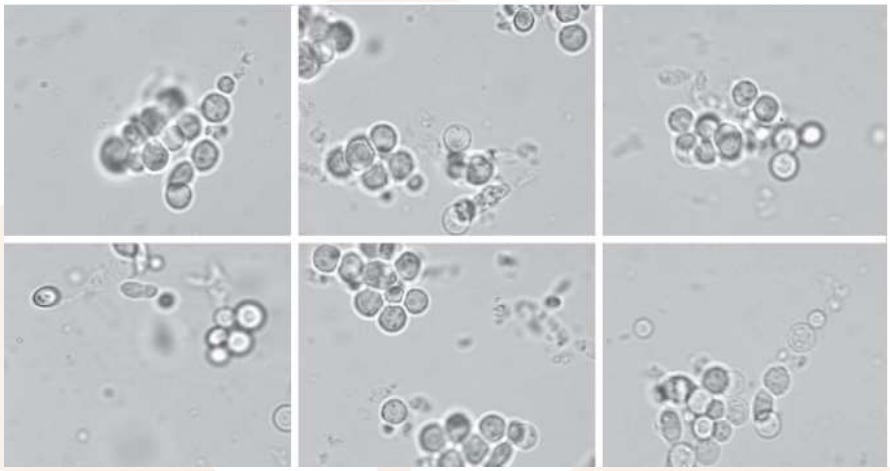
Figura 1: Flor de lúpulo

Fonte:SOARES; FIRMO, 2018**.**

2.2.4 Levedura

O aroma e sabor de qualquer tipo de cerveja estão ligados diretamente à levedura escolhida para a fermentação. Os produtos de excreção do processo fermentativo, irão determinar o sabor de cada cerveja, que geralmente depende do balanço metabólico e do cultivo da levedura escolhida, podendo afetar o pH da fermentação, pelo tipo de cepa da levedura (Figura 2), temperatura e concentração (WALKER; STEWART, 2016).

Figura 2:Cepa de leveduras observadas em microscópio óptico com aumento de 1000 vezes (imersão).



Fonte:FLEURI; SATO, 2010.

A fermentação é um processo anaeróbico em que as leveduras fermentam glicose em etanol e gás carbônico (CO_2). A glicose é convertida a piruvato pela glicólise, e o piruvato é convertido em etanol e CO_2 em um processo que se divide em duas etapas. Na primeira etapa ocorre a descarboxilação do piruvato, em uma reação irreversível catalisada pelo piruvato-descarboxilase. Essa reação é uma descarboxilação simples e o piruvato não é oxidado. Na segunda etapa, o acetaldeído é reduzido a etanol pelo álcool desidrogenase, que tem o poder redutor fornecido pelanicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) derivada da desidrogenação do gliceraldeído-3-fosfato. Etanol e CO_2 são o produto final da fermentação etanólica (CAETANO; MADALENO, 2011; PIRES; BRÁNYIK, 2015).

2.2.5 Fermentação Alcoólica

A via metabólica preferencial das leveduras cervejeiras é a fermentação alcoólica. Na falta de oxigênio ou na presença de quantidades significativas de açúcares fermentáveis, a

levedura dará preferência pela via fermentativa, adquirindo energia de fosforilação a nível do substrato (KITAGAKI; TAKAGI, 2014).

Este fenômeno, designado como efeito de *crabtree,* se manifesta quando a levedura se encontra em uma condição totalmente aeróbica e utiliza a glicose como fonte de carbono. Esse efeito é uma das características fisiológicas de suma importância da levedura, fazendo com que a via fermentativa permaneça ativa durante todo o processo, mesmo na presença de oxigênio. O efeito *crabtree* é uma estratégia para produção de etanol, possivelmente de modo a inibir o crescimento de outros microrganismos, consumidos após o esgotamento de açúcares (PIRES; BRÁNYIK, 2015).

2.2.6 Produtos do metabolismo secundário

O metabolismo secundário é constituído por um grupo de reações que não fazem parte do crescimento celular, porém origina produtos que desempenham funções importantes. São variados os produtos que desempenham esses papéis, formando como mecanismos de defesas em resposta ao estresse abiótico e biótico, atuando como moléculas reguladoras (LEITÃO; COSTA; ENGUITA, 2017).

Os metabólitos secundários das leveduras cervejeiras são produzidos em concentrações menores em relação aos produtos principais, assumindo grande importância para diversidade sensorial da cerveja. Na Tabela 1 encontram-se as classes de metabólitos e os exemplos mais comuns (WALKER; STEWART, 2016).

Tabela 1: Principais produtos dos metabolismos secundários.

Metabólitos	Exemplo
Ácidos orgânicos	Ácido acético
Álcoois superiores	Álcool isoamílico
Compostos carbonilados	Acetaldeído
Compostos de enxofre	Dimetil sulfureto
Compostos fenólicos	4-Etifenol
Ésteres	Acetato de etilo
Pólios	Glicerol

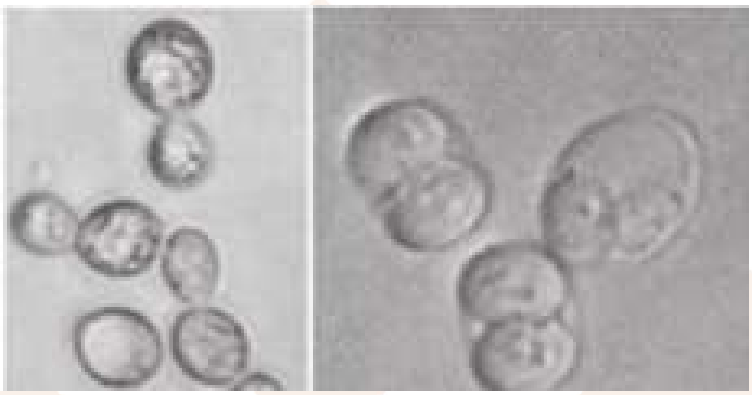
Adaptado de: WALKER; STEWART, 2016.

2.2.7 *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

A *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 3) é reconhecida desde o início do século XX, sendo certamente a levedura mais estudada. Seu nome deriva da palavra Saccharo (açúcar), myces (fungo) e cerevisiae (cerveja), é uma levedura heterotrófica, pois obtém energia da glicose e possui grande capacidade fermentativa (CASTELLARI, 2004).

Seu fácil cultivo e manipulação em laboratório, combinado com seu pequeno tamanho do genoma (cerca de 6.000 genes espalhados por 12 cromossomos) possibilita estudar sua evolução, sequenciar os genomas de linhagens evoluídas e rastrear as mudanças genômicas decorrentes das adaptações fenotípicas (VOORDECKERS; VERSTREPEN, 2015).

Figura 3: Imagem microscópica da S*accharomyces cerevisiae.*



Fonte:STENDER et al., 2001**.**

Possui uma vasta capacidade adaptativa referente a utilização do oxigênio. A levedura em contato com esse elemento multiplica-se e na ausência produz como metabólito secundário o etanol e dióxido de carbono (VENTURINI FILHO, 2016).

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O processo de produção das cervejas foi realizado no laboratório de dietética no Uniceplac, na cidade do Gama/DF.

As matérias primas foram adquiridas em lojas de produtos especializados. Os insumos empregados na produção das cervejas foram água filtrada, malte Pilsen (*Château*), trigo (malte Wheat), lúpulo (*HALLERTAU PERLE*) e (*CZECH SAAZ*) e as duas diferentes leveduras (Saccharomyces cerevisiae seco WB-06) que foi denominada de A ou fermento de pão (Saccharomyces cerevisiae e emulsificante) que foi denominada de B.

A água filtrada foi obtida no laboratório de dietética. Inicialmente, foi avaliado o pH empregando-se a técnica do pHmetro (ION, PHS-3E).

A produção da cerveja, conforme descrito na Figura 4, teve início com a moagem dos maltes no liquidificador (Fak, Alta Rotação), de forma a quebrar os grãos e expor o endosperma a fim de facilitar a extração do amido e não triturar a casca.

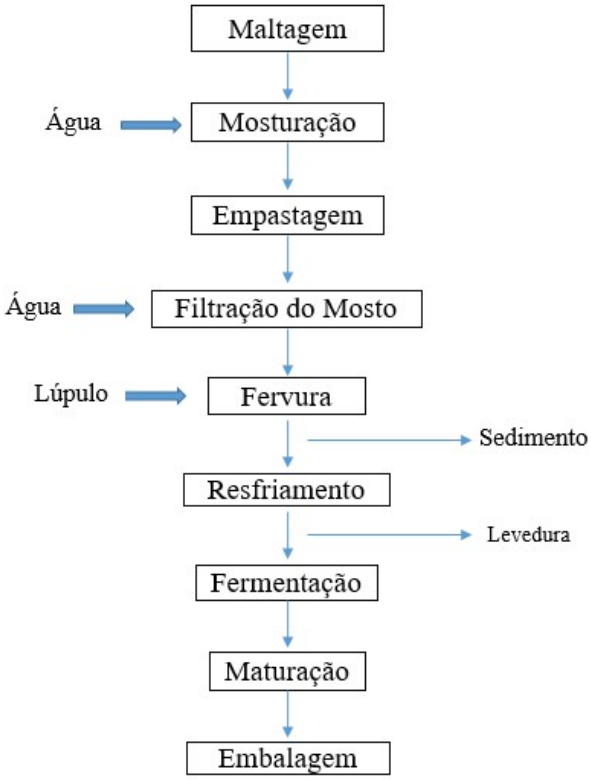
O processo de mosturação iniciou-se em temperatura de 55°C durante 30 minutos, posteriormente a temperatura foi elevada a 67°C por 60 minutos, temperatura em que ocorre a reação das enzimas alfa e beta amilase, presentes nos maltes, ocasionando a hidrólise do amido e sua conversão em açúcares fermentáveis. Em seguida a temperatura foi elevada a 75°C para inativar as enzimas (VENTURINI FILHO, 2016).

Após a mosturação, foi realizada a filtração e lavagem do mosto, para separação da parte líquida e da parte sólida. A água, aquecida a temperatura de 75°C, foi utilizada para lavagem do mosto, a fim de extrair os açúcares fermentáveis que ficam retidos no bagaço após a filtração. Retirou-se uma pequena amostra do mosto para análise.

Posteriormente a etapa de filtração, a temperatura foi elevada a 100°C por 60 minutos, com o objetivo de formar compostos aromáticos, intensificar a cor e esterilizar o mosto. Adicionou-se o lúpulo (*CZECH SAAZ*) com finalidade de promover amargor ao produto e durante os 15 minutos finais foram adicionados 50 gramas de laranja, 90 gramas de coentro (obtido na feira local) e 8 gramas do lúpulo (*HALLERTAU PERLE*) com objetivo de conferir o aroma a bebida.

Ao final da mosturação, realizou-se o teste de iodo, para confirmação da sacarificação do amido. Onde se colocou algumas gotas do mosto na placa de toque para teste de iodo.

Figura 4: Processo de fabricação da cerveja.



Fonte: Adaptado de: GARCIA, 2017.

Verteu-se 100 mL de cada mosto em duas provetas, utilizamos o densímetro para medir a densidade após fermentação. Com os valores da densidade inicial e final, calculou-se o teor alcoólico da cerveja seguindo a equação 1:

$$ABV: (DO - DF) \times 131 \qquad \text{(eq. 01)}$$

Onde: ABV=Percentual de álcool gerado; DO= Densidade inicial; DF= Densidade final.

Em seguida o mosto foi separado em dois fermentadores e resfriados a temperatura de 25°C para a inoculação da levedura. As leveduras foram hidratadas em recipientes separados,

colocadas sobre o agitador magnético (Eprom) com a ação de uma barra magnética durante 60 segundos na velocidade 5.

Para o processo de fermentação, em ambos os fermentadores foram acoplados válvulas de escape utilizadas para que não ocorra o acúmulo de pressão causada pelo CO_2. Os fermentadores foram mantidos por 15 dias em temperatura ambiente.

Ao final dos 15 dias foi realizado o cálculo para definir a quantidade de açúcar a ser colocado dentro de cada garrafa para que ocorra uma refermentação.

Sabe-se que para 1 litro de cerveja utiliza-se 7 gramas de açúcar, então em cada garrafa de 300 ml foram utilizados 2,1 gramas de açúcar. Após o envase da cerveja, foram acondicionadas em local arejado por mais 7 dias antes de irem para a geladeira.

4. APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

A realização dos testes preliminares consistiu em avaliar as características físico-químicas das cervejas desenvolvidas experimentalmente. Na Tabela 2 é demonstrado o pH inicial e final da água após acidificar com ácido fosfórico antes do início da produção da cerveja.

Tabela 2: pH da água.

	Inicial	**Final**
pH da água	5.8	4.6

Fonte: Do autor, 2021.

Desse modo, o pH foi reduzido após adição de 13 gotas de ácido fosfórico (P.A., Vetec). Quando se tem um pH muito elevado, a cerveja fica suscetível à ação biológica que pode levar à precipitação e turvação (ROSA; AFONSO, 2015).

Para verificação do pH ao longo do processo verteu-se 20 ml de ambos os mostos antes e após fermentação para análise de pH, os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: pH do mosto antes e após a fermentação.

Leveduras	pH do mosto	pH pós fermentação	Temperatura
Wb-06 (A)	**4.5**	**3.6**	**23.1°C**
Pão (B)	**4.5**	**4.11**	**23.1°C**

Fonte: Do autor, 2021.

O pH ideal da cerveja deve estar em torno de 4.0 pois, à medida que este valor se eleva a cerveja torna-se mais suscetível a ação biológica (VENTURINI FILHO, 2016).

Após a mosturação foi medida a densidade original do mosto e obteve-se 1.030 g/cm³ quando comparada com a cerveja de referência *hoegaarden*, em que a densidade original está entre 1.044 – 1.052 g/cm³. Após a fermentação em ambos os mostos mediu-se a densidade onde a cerveja A apresentou 1.004 g/cm³, a cerveja B apresentou 1.005 g/cm³, a densidade final segundo a *Beer Style Guidelines* é 1.008 – 1.012 g/cm³ (GATZA et al, 2017).

Durante o período de armazenamento do malte, fatores como temperatura, umidade, fungos e pragas interferem na qualidade do produto. No período de estocagem dos grãos de malte estão sujeitos a influências ambientais, como temperatura e umidade, seja em estruturas como depósitos, armazéns ou acondicionado em locais com baixa temperatura, interferindo diretamente na quebra do amido (PINTO, 2013).

Segundo Jordana (2018) é de grande importância manter o controle da densidade do mosto, pois garante a qualidade da cerveja. A falta de controle afeta tanto a padronização da cerveja quanto em seu rendimento final na produção.

O teor alcoólico encontrado na cerveja depende das condições durante a fermentação. A quantidade de açúcar consumida pelas leveduras se transforma em álcool contribuindo para o teor alcoólico (JORDANA, 2018). O teor alcoólico foi obtido através das equações 02 e 03.

Levedura WB-06 (A): ABV (1.030 - 1.004) x 131= 3.4% teor alcoólico (eq. 02)

Levedura de pão (B): ABV (1.030 - 1.005) x 131 = 3.3% teor alcoólico (eq. 03)

Em decorrência da densidade estar abaixo do esperado, ambas as cervejas não alcançaram o teor alcoólico da cerveja de referência hoegaarden, que apresenta o teor alcoólico de 4.5% (GATZA et al., 2017).

Durante o armazenamento da cerveja, as partículas em suspensão decantam por formarem compostos de peso molecular mais alto, relacionando diretamente à turbidez, de modo que a precipitação é proporcional ao tempo de armazenamento. A turbidez também está relacionada com a polimerização e combinação de compostos fenólicos com proteínas. Que podem combinar-se naturalmente com outras substâncias que se encontram presentes na cerveja, como ácidos orgânicos, íons metálicos, substâncias nitrogenadas e açúcares (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008). Observou-se que a cerveja A apresentou uma menor turbidez quando comparada com a cerveja B, conforme Figura 5.

Figura 5: Diferenças de turbidez entre o mosto fermentado com WB-06 e levedura de pão.

Fonte: Do autor, 2021.

4.1 Análise Organoléptica

Para realização da análise organoléptica foi criado dois formulários no google formulários (Anexo 1), cada um para a sua respectiva cerveja, diferenciados apenas pelas cores, onde os consumidores não sabiam qual cerveja estavam consumindo.

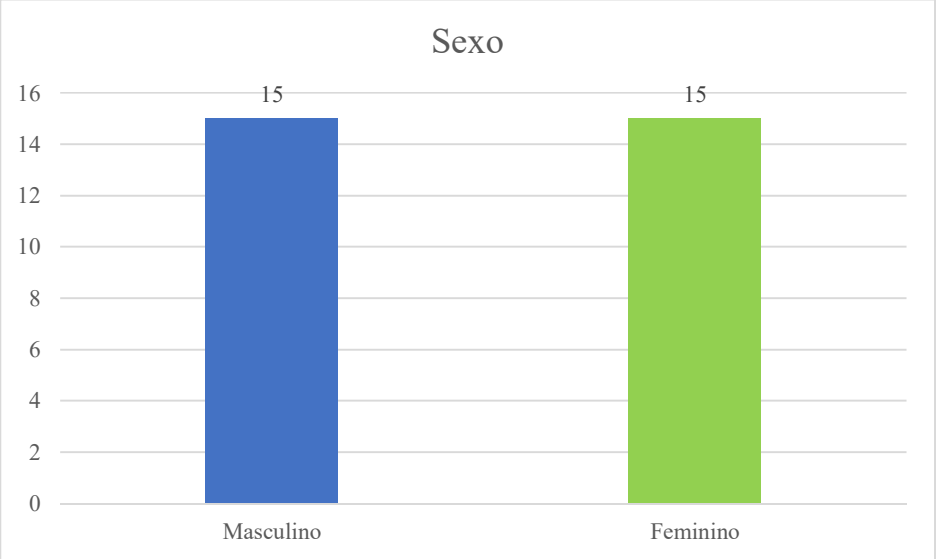
Foram distribuídas duas cervejas de 300 ml para cada consumidor, todos com mais de 18 anos, com a seguinte orientação: cerveja estilo *Witbier* belga: feita de trigo, de cor clara e turva, utilizado em sua produção coentro e casca de laranja, deixar no mínimo 12 horas na geladeira, antes de realizar a degustação deve-se abrir a garrafa, colocar de 50 a 80 ml da cerveja em um copo de vidro transparente, abrir o respectivo formulário de acordo com cada cor e responder enquanto realiza a degustação, entre uma cerveja e outra consumir um copo de água em temperatura ambiente para limpar o gosto da cerveja anterior.

A análise sensorial é bastante empregada na indústria de alimentos para desenvolvimento e apreciação de novos produtos. Usada para evocar, analisar, medir e interpretar

reações das características dos alimentos e materiais como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (TEIXEIRA, 200b).

Um total de 30 pessoas participaram da análise sensorial, deste 50% são mulheres e 50% homens, conforme a Figura 6. Disponibilizaram-se uma ficha com dois formulários para ambas as cervejas.

Figura 6: Sexo dos participantes.



Fonte: Do autor, 2021.

Para avaliação da turbidez da cerveja foi utilizado a escala *European Brewing Convention* (EBC) podendo ser aplicada ao malte ou a cerveja, sendo avaliada 1-amarelo; 2-amarelo palha; 3-Amarelo escuro; 4- Ouro; 5- Vermelho escuro; 6-marrom; 7- Preto, conforme a Figura 7.

Figura 7: Escala de cor da cerveja.

Fonte: Do autor, 2021.

Na tabela 4 estão apresentados os dados das características de turbidez, os resultados estão expressos pela média com o respectivo desvio padrão.

Tabela 4: Resultados da turbidez.

Amostras	Turbidez
A	2,46 ± 0,77
B	3,03 ± 0,80

Fonte: Do autor, 2021.

Nos resultados de turbidez a cerveja A apresentou a coloração amarelo palha, a cerveja B apresentou a coloração amarelo escuro. Segundo Gatza et al (2017) sua aparência é amarelo palha, apresentando uma turbidez turva em razão do amido dos grãos ou leveduras, lhe dando uma aparência leitosa.

A estabilidade da espuma foi avaliada da seguinte forma: 1 sendo espuma breve e 5 espumas persistente, a cor da espuma foi avaliada da forma similar sendo 1 clara e 5 escura. Os dados das características da espuma estão expressos na Tabela 5, sendo os resultados apresentados a partir da média das respostas obtidas nos questionários.

Tabela 5: Resultados da cor e estabilidade da espuma de acordo com os dados obtidos pelos participantes.

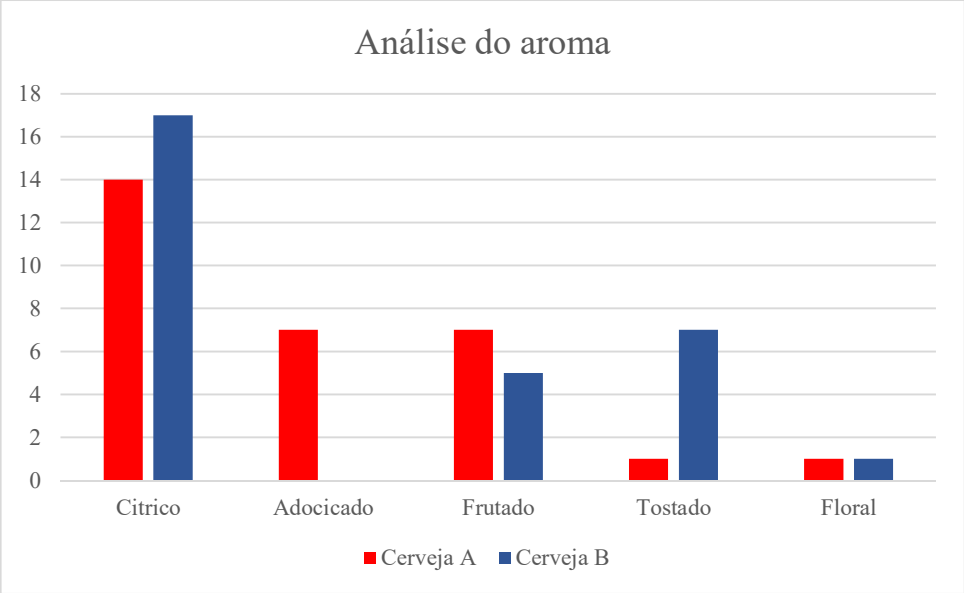
Amostras	Cor da espuma	Estabilidade da espuma
A	1,03 ± 0,18	3,73 ± 1,33
B	1,33 ± 0,71	1,66 ± 1,15

Fonte: Do autor, 2021.

A cerveja A apresenta melhor estabilidade, persistência e densidade da espuma quando comparada com a B. Ambas as amostras apresentaram a espuma branca. Cepas da *Saccharomyces cerevisiae* não convencionais apresentam menor perda de massa, indicando menor liberação de dióxido de carbono quando comparada com cepas próprias para a produção de cerveja como a WB-06. A forma como a cerveja é dispensada influência de forma direta na formação da espuma (SILVA; FERREIRA; TEIXEIRA, 2006).

Durante o período de maturação são formados os ésteres que originam o aroma e sabor que caracterizam a cerveja, expressos na Figura 8.

Figura 8: Análise do perfil aromático das cervejas A e B.

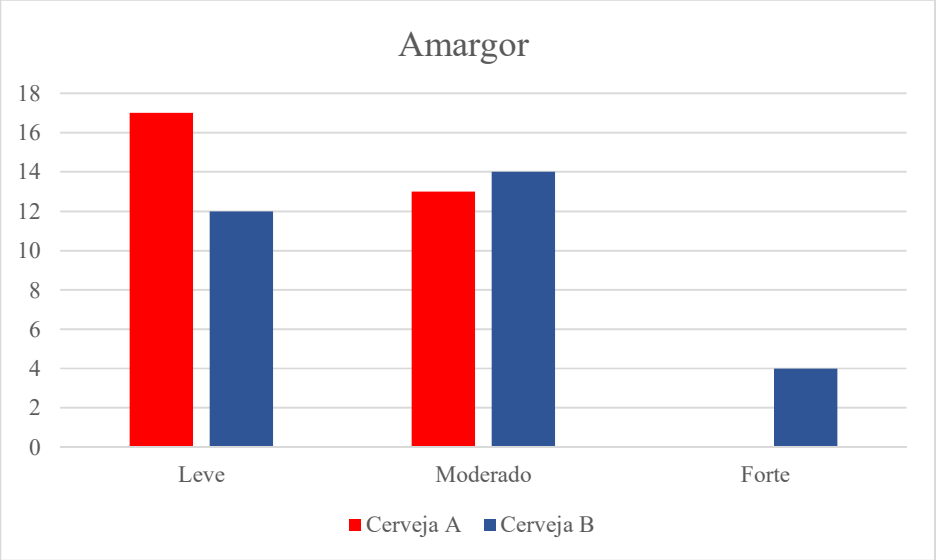


Fonte: Do autor, 2021.

Segundo Gatza et al (2017) o estilo Witbier deve apresentar perfume maltado doce, com aroma de trigo suave, moderada essência de coentro com o frutado cítrico de laranja. A especiaria deve se misturar com aromas frutados, florais e doces, esses aromas não devem ser excessivamente fortes.

O amargor foi classificado em leve, moderado e forte. Podemos observar que a cerveja A apresentou o amargor mais leve quando comparada com a cerveja B, conforme apresentado na Figura 9.

Figura 9: Resultado do amargor para as cervejas A e B.

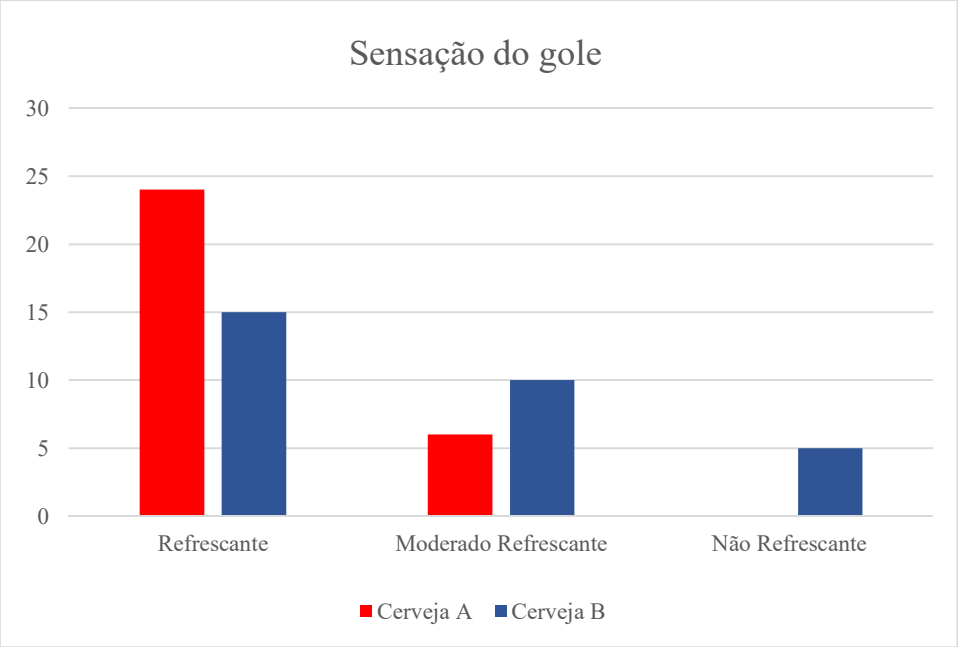


Fonte: Do autor, 2021.

A cerveja A apresentou o amargor mais leve quando comparado com a B que apresentou moderado amargor. Segundo Gatza et al (2017), o amargor do lúpulo é baixo e médio, e não interfere na refrescância das frutas e especiarias. Entretanto, vale ressaltar que o amargo da casca de laranja não deve estar presente. Ambas as cervejas apresentaram o amargor dentro do esperado para o seu estilo cervejeiro.

O paladar é um sentido humano responsável por captar perceber e interpretar as sensações do sabor (TEIXEIRA, 2009). Em ambas as cervejas a sensação do gole refrescante foi predominante, conforme resultados expressos na Figura 10.

Figura 10: Resultado da sensação do gole.

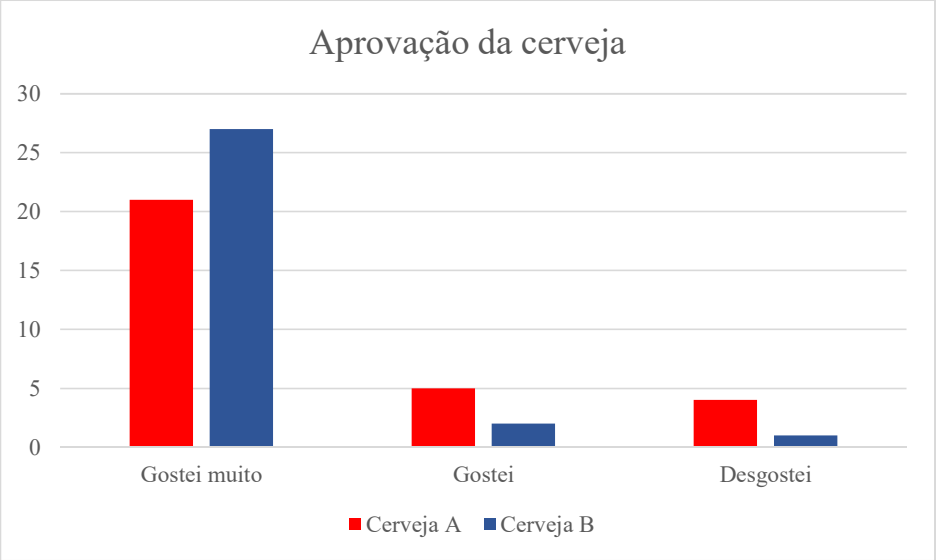


Fonte: Do autor, 2021.

Segundo Gatza et al (2017), a sensação da degustação deve ser refrescante, leve acidez e falta de amargor final devido a sua carbonatação, não devendo ser excessivamente seca e fina nem espessa e pesada**.** A cerveja A e B apresentaram predominantemente a sensação do gole refrescante.

Durante a análise sensorial foi avaliado a aprovação da cerveja por meio de uma escala hedônica com nota variando de 1 a 6 pontos, onde 1 e 2: Desgostei; 3 e 4: Gostei; 5 e 6: Gostei muito, estes resultados podem ser visualizados na Figura 11.

Figura 11: Resultados da aprovação da cerveja.

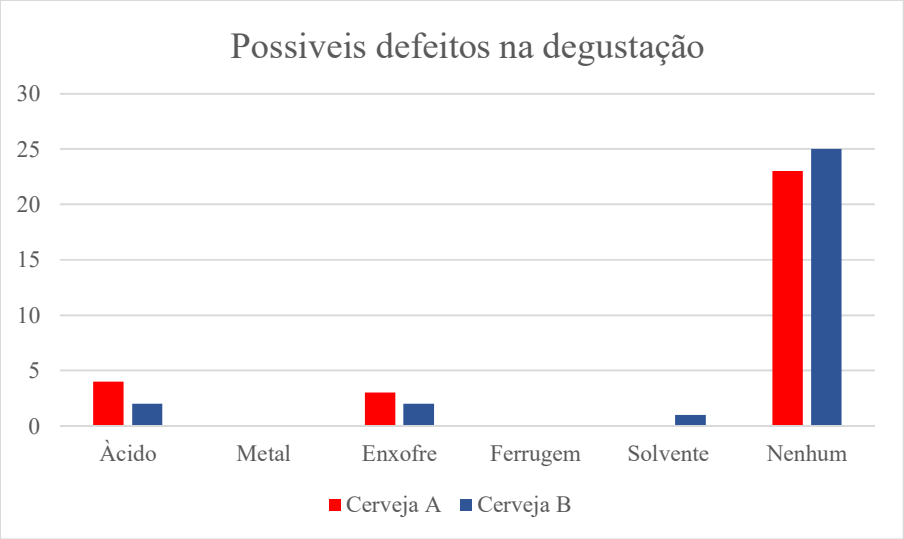


Fonte: Do autor, 2021.

Por mais que o processo de produção da cerveja tenha um controle rigoroso em sua produção, compostos indesejados podem aparecer, a Figura 12 apresenta os resultados dos possíveis defeitos apresentados pelos consumidores na degustação da cerveja.

As causas podem variar de acordo com compostos que muitas vezes são gerados durante a fermentação ou ainda, algumas dessas características aparecem durante a brasagem. Defeitos como a formação de solvente, ferrugem, enxofre, oxidação entre outros não são raridade na produção de cerveja e podem deixar com sabores e aromas bem desagradáveis, tornando-a imprópria para o consumo (MOMBACH, 2018).

Figura 12: Resultado dos possíveis defeitos na degustação.



Fonte: Do autor, 2021.

Ambas as cervejas produzidas neste trabalho, apresentam características organolépticas dentro dos parâmetros estabelecidos para esse estilo cervejeiro, embora as análises sensoriais da cerveja A apontem mais semelhança quando comparada com os parâmetros estabelecidos (BCJP) para a cerveja de referência.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cerveja é formada por um conjunto complexo de moléculas através da interação entre as leveduras e o mosto, dando característica ao aroma e sabor.

Portanto é possível concluir que os compostos de aroma e sabor, que caracterizam as combinações da qualidade do paladar da cerveja, é resultado do metabolismo da levedura, que faz com que grande parte do valor final desta bebida esteja diretamente relacionada com o desempenho da levedura durante a fase de fermentação.

Dado o exposto, o modelo de fermentação apresentado neste trabalho teve sucesso pois, o pH e a turbidez estavam adequados e ambas as leveduras tiveram a densidade perto do valor esperado para o estilo cervejeiro. Todas as análises físico-químicas foram realizadas para que se alcançasse a cerveja desejada, identificamos diferenças organolépticas da cerveja artesanal fermentada com a utilização de duas estipes da levedura Saccharomyces cerevisiae. Por todos esses aspectos é possível concluir que o sabor e a qualidade final da cerveja são definidos pelo processo que foi utilizado, pela levedura escolhida e pelos compostos desenvolvidos durante a fermentação e maturação que exercem maior impacto nas características sensoriais da bebida.

A cerveja B apresentou melhor aprovação entre os participantes, com características de um aroma cítrico, um amargor moderado e menos defeitos na degustação quando comparado com a cerveja A.

A cerveja A, entretanto apresentou características de turbidez, espuma e sensação do gole mais próximos ao da cerveja de referência hoegaarden.

Diante dos resultados alcançados, esse estudo poderá se tornar um início para futuros estudos e ponto de comparação com outros mostos e estipes.

REFERÊNCIAS

CABRAS, I.; HIGGINS, D. M. **Beer, brewing, and business history**. Business History, v. 58, n. 5, p. 609–624, 2016.

CAETANO, A. C. G.; MADALENO, L. L. **Controle de contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica com a aplicação de biocidas naturais.**Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, v. 2, n. 1, p. 27–37, 2011.

CASTELLARI, M. ET AL. **HYDROSTATIC PRESSURE TREATMENTS FOR BEER STABILIZATION.**V. 65. Brewing Science and practice. v. 6

DELIBERALLI, C. C. Camilo Camargo Deliberalli **Cervejas Artesanais No Brasil: Análise Da Comunicação Integrada De Marketing Da Cervejaria Bodebrown**. p. 129, 2015.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ, S. J. Revisão - **Química do Lúpulo**. Química Nova, v. 42, n. 8, p. 900–919, 2019.

SILVA, R. B. et al. **Germination and seedling vigour in Parkia platycephala Benth. in different substrates and temperatures**. Revista Ciencia Agronomica, v. 48, n. 1, p. 142–150, 2017.

ECONOMOU, I. G. et al. **Process Systems Engineering, 9. Domain Engineering**. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 2012.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. **Produção de protoplastos e lise da parede celular de leveduras utilizando β-1,3 glucanase.**Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n. 2, p. 471–476, 2010.

FRANCISQUINI, J. D. et al. **Reação De Maillard: Uma Revisão.**Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 72, n. 1, p. 48, 2017.

FRIEDT, W. **Barley breeding history, progress, objectives, and technology.**Barley: Production, Improvement, and Uses, p. 160–220, 2010.

GARCIA, M. M. E. **Produção de cerveja : Utilização de estirpes não- convencionais em co-fermentação com Saccharomyces para potenciação do perfil sensorial de diversos tipos de cerveja.** p. 109, 2017.

GATZA, P. et al. **BJCP Beer Style Guidelines 2015**. Brewers Association, p. 1–93, 2017.

JORDANA. **Acompanhamento da densidade do mosto durante a fermentação de cervejas produzidas em uma cervejaria artesanal.**Director, v. 15, n. 40, p. 6–13, 2018.

KAMINSKI, J. P. AND C. **Water a Comprehensive Guide for Brewers**. v. 6

KITAGAKI, H.; TAKAGI, H. **Mitochondrial metabolism and stress response of yeast: Applications in fermentation technologies**. Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 117, n. 4, p. 383–393, 2014.

LEITÃO, A. L.; COSTA, M. C.; ENGUITA, F. J. **Applications of genome editing by programmable nucleases to the metabolic engineering of secondary metabolites.**Journal of Biotechnology, v. 241, p. 50–60, 2017.

MCADAM, E. L. et al. **Quantitative genetic parameters for yield, plant growth and cone chemical traits in hop (Humulus lupulus L.)**. BMC Genetics, v. 15, 2014.

MEGA, J.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. DE. **A Produção Da Cerveja No Brasil**. Revista Citino, v. 1, n. 1, p. 1–6, 2011.

MOMBACH, J. A. A. **Production of a beer style american wheat beer with added lemon grass.** Angewandte Chemie International Edition, v. 6, n. 11, p. 951–952, 2018.

PERSYN, D.; SWINNEN, J. F. M.; VANORMELINGEN, S. **Belgian Beers: Where History Meets Globalization.**SSRN Electronic Journal, n. 0, p. 0–39, 2012.

PINTO, A. R. M. **Avaliação do processo de secagem no fabrico de malte**. Caso de estudo da sociedade central de cervejas e bebidas. p. 1–69, 2013.

PIRES, E.; BRÁNYIK, T. **Biochemistry of Beer Fermentation**. v.6 p.1-82, 2015.

REBELLO, F. D. F. P. **Produção de cerveja.**Revista Agrogeoambiental, v. 1, n. 3, p. 145–155, 2009.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. **A Química da Cerveja.**Química Nova na Escola, v. 37, n. 2, p. 98–105, 2015.

SÁ, R. **Agrogénese neolítica e pricnpais transformações agrícolas ao longo da historia ate a**

revolução francesa. Instituto Superior de Ciências Sociais e Políticas- Universidade Técnica de Lisbo, p. 2–11, 2001.

SANTOS, F. J. N. DOS. **Quebra de extrato na fabricação de cerveja;** Relatório de Estágio para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química e Biológica Orientador : Júri : 2019.

SANTOS, I. J. **Cinética de fermentações e estudo de metabólitos e enzimas intracelulares envolvidas na fermentação alcoólica cervejeira conduzidas com leveduras de alta e baixa fermentação em diferentes composições de mosto.** p. 1–121, 2005.

SILVA, F.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; TEIXEIRA, N. **Polipeptídeos e proteínas com influência na qualidade da espuma da cerveja e métodos analíticos utilizados no seu estudo.** Química Nova, v. 29, n. 6, p. 1326–1331, 2006.

SILVA, J. A. et al. **Application of the factorial design and response surface methodology for optimization of alcoholic fermentation.** Quimica Nova, v. 31, n. 5, p. 1073–1077, 2008.

SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H.; MACEDO, G. A. **O Processo de Fabricação da Cerveja e Seus Efeitos na Presença de Polifenois.**Rev. Alim. Nutr, v. 19, n. 4, p. 1–498, 2008.

SOARES, L.; FIRMO, H. **O cultivo do lúpulo em terras brasileiras : como este ingrediente pode fomentar a pesquisa acadêmica e as economias locais.** p. 1–16, 2018.

STENDER, H. et al. I**dentification of Dekkera bruxellensis (Brettanomyces) from wine by fluorescence in situ hybridization using peptide nucleic acid probes**. Applied and Environmental Microbiology, v. 67, n. 2, p. 938–941, 2001.

TEIXEIRA, L. V. **Análise sensorial na indústria de alimentos.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 64, n. 366, p. 12–21, 2009.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. p 5 - 356, 2016.

VOGEL. **Avaliação da adição de pequenas frutas (berries) na produção de cerveja artesanal: Análise fisico-quimica, sensorial, compostos fenolicos e atividade antioxidant**e. p. 1–14, 2017.

VOORDECKERS, K.; VERSTREPEN, K. J. **Experimental evolution of the model eukaryote Saccharomyces cerevisiae yields insight into the molecular mechanisms underlying adaptation.** Current Opinion in Microbiology, v. 28, n. Figure 1, p. 1–9, 2015.

WALKER, G.; STEWART, G. **Saccharomyces cerevisiae in the Production of Fermented Beverages.**Beverages, v. 2, n. 4, p. 30, 2016.

WILLAERT, R. **Biochemistry of Beer Fermentation.** Food Biochemistry and Food Processing: Second Edition, p. 627–653, 2012.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pela força que tem me dado, sei que nunca me deixou só.

(...)O senhor é o meu pastor, nada me faltará. Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranquilas. Refrigera a minha alma, guia-me pelas veredas da justiça, por amor do seu nome. (...)". Salmo 23

Agradeço aos meus pais que sempre me apoiaram, a minha irmã que sempre me ajudou, e minha esposa que sempre me incentivou a estudar e buscar conhecimento, a todos sou extremamente grato.

Aos meus poucos amigos da turma, que sempre estiveram comigo durantes esses 5 anos. Agradeço a minha orientadora pela paciência e companheirismo nessa jornada que não foi fácil, e meu co-orientador pela ajuda e conhecimento.

ANEXO

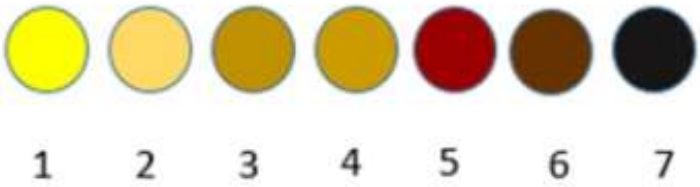
Avaliação cerveja

Formulário destinado a avalição da cerveja demarcada com fita VERMELHA. logo após finalizar a avaliação começar a avaliar a cerveja com a fita AZUL.
Abrir a garrafa, colocar de 50 a 80 ml da cerveja em um copo e realizar a degustação.
Consumir a cerveja entre a temperatura de 4°C a 8°C.
Deixar no mínimo 12 horas na geladeira.
Estilo Witbier belga: feita de trigo, de cor clara e turva, utilizada em sua produção coentro e casca de laranja.

Sexo: *

- ◯ Masculino
- ◯ Feminino

Aparência (responder no item a baixo de acordo com a númeração)



Aparência (responder de acordo com o item a cima) *

1	2	3	4	5	6	7
○	○	○	○	○	○	○

Cor da espuma *

	1	2	3	4	5	
Clara	○	○	○	○	○	Escura

Estabilidade da espuma *

	1	2	3	4	5	
Breve	○	○	○	○	○	Persistente

Aroma *

- ◯ Floral
- ◯ Adocicado
- ◯ Frutado
- ◯ Citrico
- ◯ Tostado

Paladar *

Amargor

	1	2	3	4	5	
Baixo	◯	◯	◯	◯	◯	Alta

Paladar *

Sensação do gole

	1	2	3	4	5	
Refrescante	◯	◯	◯	◯	◯	Quente

Aprovação da cerveja *

Por favor, avalie as amostras codificadas da esquerda para a direita e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou da mesma.

	1	2	3	4	5	6	
Desgostei muito	○	○	○	○	○	○	Gostei muito

Possíveis defeitos *

- [ ] Ácido
- [ ] Metal
- [ ] Enxofre
- [ ] Ferrugem
- [ ] Solvente
- [ ] Nenhum
- [ ] Outros...

Observações

Possíveis observações sobre a cerveja.

Texto de resposta longa