



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Departamento de Tecnologia de
Alimentos



**ESTUDO DA PRODUÇÃO DE MOSTO CONCENTRADO
LUPULADO A PARTIR DE EXTRATO DE MALTE
CONCENTRADO, XAROPE DE ALTA MALTOSE E
LÚPULO**

Dissertação apresentado à banca
examinadora como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Tecnologia de Alimentos

Juliana Andrade Teles

Farmacêutica – Habilitação Industrial

Orientador: Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti

**CAMPINAS – SÃO PAULO
2007**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

T236e Teles, Juliana Andrade
Estudo da produção de mosto concentrado lupulado a partir de extrato de malte concentrado, xarope de alta maltose e lúpulo / Juliana Andrade Teles. -- Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientador: Roberto Hermínio Moretti
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Bebidas. 2. Cerveja. 3. Extratos de malte. 4. Fervura. 5. Trub. I. Moretti, Roberto Hermínio. II. Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Titulo em inglês: Study of the hopped wort malt extract production by using concentrated wort malt extract, high maltose syrup and hop

Palavras-chave em inglês (Keywords): Brewing, Beer, Malt extracts, Wort boiling, Trub

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Roberto Hermínio Moretti

Flavio Luís Schmidt

Alexandre Marcelo Prado

Silvana Mariana Srebernich

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti
ORIENTADOR – DTA/FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt
MEMBRO – DTA/FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Marcelo Alexandre Prado
MEMBRO – DCA/FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Silvana Mariana Srebernick
MEMBRO - PUCCAMP

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio, compreensão e credibilidade.

Às amigas que fiz no DTA: Lu Nishi, Priscila, Lílian, Larissa (Lara chuchu) Alessandra, Chris, Andrea, Silvia entre tantas outras, as quais acompanharam de perto todas as minhas inseguranças e angústias, mas que também foram companheiras de muitas risadas.

Às outras queridas amigas sempre presentes na minha vida: Karen (Kaká), K. Doho, Fernanda e Adriana que mesmo de longe me acompanharam.

Às técnicas Ana e Priscila (Laboratório de Frutas), Alessandra (Laboratório de Cereais) e Ana Lourdes (Laboratório de Instrumentação) que tanto fizeram por mim.

Ao Mestre Cervejeiro Egon Tschope e à Renata Campolim, ambos da Cervejaria Premium que me deram a oportunidade e todo o suporte para realização dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Horacio Pezoa e à Prof. Dr. Silvana Srebernich pelos incentivos e entusiasmo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti, que me fez conhecer o lado prático da vida.

À Liotécnica, à Cargill que colaboraram no fornecimento de matérias-primas.

À CAPES, CNPq, à FEA/DTA, pelo apoio financeiro e institucional.

**"O período de maior ganho de conhecimento e
experiência é o período de maior dificuldade na vida de
cada um."**

Dalai Lama

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo Geral	2
2.2. Objetivos Específicos.....	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1. Mercado de cerveja em expansão no Brasil	3
3.2. Produção alternativa de cerveja	5
3.3. Tecnologia cervejeira.....	9
3.4. Ingredientes cervejeiros	14
3.4.1. Malte	14
3.4.1.1. Malteação	14
3.4.1.2. Extrato de malte.....	17
3.4.1.3. Produção do extrato de malte concentrado	18
3.4.1.4. Extrato de malte com aplicação na produção de cerveja	19
3.4.2. Lúpulo	21
3.4.3. Adjuntos	23
3.4.3.1. Produção do xarope de alta maltose	25
3.4.4. Água.....	26
3.5. Processos cervejeiros	28
3.5.1. Mosturação	28
3.5.2. Fervura.....	29
3.5.3. Clarificação e remoção do trub	33
3.5.3.1. Métodos de remoção	34
3.5.3.1.1. Trub quente.....	35
3.5.3.1.2. Trub frio.....	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.1. Matérias-primas utilizadas na produção do mosto e cerveja	38
4.2. Métodos	39
4.2.1. Planejamento Experimental	39
4.2.2. Produção do mosto e cerveja.....	41
4.2.3. Determinações físico-químicas dos mostos	43
4.2.3.1. pH.....	43
4.2.3.2. extrato primitivo	43
4.2.3.3. extrato aparente	43
4.2.4. Determinações físico-químicas das cervejas	44
4.2.4.1. pH.....	44
4.2.4.2. Cor.....	44
4.2.4.3. Amargor.....	45
4.2.4.4. Proteínas Totais.....	45
4.2.4.5. Polifenóis	46
4.2.5. Determinações físico-química do lúpulo.....	47
4.2.5.1. teor de alfa ácidos	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48

5.1. Cor.....	52
5.2. Amargor.....	61
5.3. Polifenóis.....	64
5.4 Proteínas.....	67
5. CONCLUSÃO.....	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Consumo per capita (L/habitante) de cerveja em diversos países, incluindo o Brasil	4
FIGURA 2. Evolução do consumo per capita de cerveja no Brasil até 2004.....	4
FIGURA 3. Esquema simplificado do processo para produção de cerveja.	10
FIGURA 4. Fluxograma das etapas de processamento na produção de cerveja..	13
FIGURA 5. Fluxograma do processo de malteação	15
FIGURA 6. Fluxograma de produção de xarope de maltose com diferentes composições.	26
FIGURA 7. Fluxograma da 1ª etapa: produção do mosto.	42
FIGURA 8. Fluxograma da 2ª etapa: produção da cerveja.	42
FIGURA 9. Curva de contorno obtida para a resposta cor (EBC) em função do tempo e malte:adjunto.....	54
FIGURA 10 - Curva de contorno obtida para a resposta cor L^* em função do tempo e malte:adjunto.....	56
FIGURA 11. Curvas de contorno obtidas para a resposta cor a^* em função do tempo e malte:adjunto.....	58
FIGURA 12 - Curva de contorno obtida para a resposta cor b^* em função do tempo e malte:adjunto.....	59
FIGURA 13. Curva de contorno obtida para a resposta amargor (EBU) função do tempo e lúpulo.....	63
FIGURA 14. Curvas de contorno obtidas para a resposta polifenóis (mg/L) em função do tempo e lúpulo (a), do tempo e malte:adjunto (b) e do lúpulo e malte:adjunto (c).....	66
FIGURA 15. Curva de contorno obtida para a resposta proteínas (%) em função do tempo e malte:adjunto.....	68

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Cinco maiores cervejarias do mundo em 2004*	5
TABELA 2. Etapas do processo para produção de cerveja	11
TABELA 3. Típica composição de diferentes extratos de malte.....	18
TABELA 3. Composição dos diferentes tipos de xarope de maltose e sua dextrose equivalente (DE).....	25
TABELA 4. Composição do trub quente.....	34
TABELA 5. Características do extrato concentrado de malte	39
TABELA 6. Características do xarope de alta maltose.....	39
TABELA 7. Variáveis independentes para obtenção do mosto lupulado clarificado no planejamento fatorial completo 2^3	40
TABELA 8. Valores reais do planejamento utilizado	40
TABELA 9. Características físico-químicas das cervejas produzidas	49
TABELA 10. Resultados obtidos para mosto e cerveja.....	50
TABELA 11. Resultados do DCCR para as respostas cor (CIELAB e EBC), amargor, polifenóis e proteínas totais	51
TABELA 12. Coeficientes de regressão para a resposta COR (EBC), considerando somente os termos a $p < 0,10$	53
TABELA 13. ANOVA para COR (EBC), considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$	53
TABELA 14. Coeficientes de regressão para a resposta COR L^* , considerando somente os termos a $p < 0,10$	55
TABELA 15. ANOVA para COR L^* , considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$	55
TABELA 16. Coeficientes de regressão para a resposta COR a^* , considerando somente os termos a $p < 0,10$	57
TABELA 17. ANOVA para COR a^* , considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$	57
TABELA 18. Coeficientes de regressão para a resposta COR b^* , considerando somente os termos a $p < 0,10$	59

TABELA 19. ANOVA para COR b^* , considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$	59
TABELA 20. Coeficientes de regressão para a resposta AMARGOR (EBU), considerando somente os termos a $p < 0,10$	62
TABELA 21. ANOVA para AMARGOR (EBU), considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$	62
TABELA 22. Coeficientes de regressão para a resposta POLIFENOL (mg/L), considerando somente os termos a $p < 0,10$	65
TABELA 23. ANOVA para POLIFENOL (mg/L), considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$	65
TABELA 24. Coeficientes de regressão para a resposta PROTEÍNA (%), considerando somente os termos a $p < 0,10$	67
TABELA 25. ANOVA para PROTEÍNA (%) considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$	68

RESUMO

O uso de extrato de malte concentrado como matéria-prima cervejeira até hoje foi pouco estudado. É sabido que produzir cervejas claras e sem resíduo adocicado, é um desafio para este ingrediente. No entanto, cervejas produzidas a partir de extrato de malte concentrado, necessitam de menores investimentos quando se comparado ao método tradicional pois, economiza em mão-de-obra, espaço e energia. Pensando nisso, o trabalho teve como objetivo, produzir diferentes mostos concentrados lupulados formulados conforme planejamento experimental aplicado (DCCR), caracterizar as cervejas produzidas com estes mostos. Estudar o uso de xarope de alta maltose com a finalidade de redução da cor e proteína no produto final e verificar durante a fervura, interações ocorridas entre malte/adjunto, lúpulo e tempo quanto à cor, amargor, polifenóis e proteínas. Verificou-se que mostos produzidos com extrato de malte concentrado possuem fermentações mais lentas. Os produtos obtidos tiveram características físico-químicas semelhantes à cerveja tipo *Pilsen*. Durante a fervura, o tempo foi mais influente para a produção de cervejas mais escuras. Apesar disso, o uso de xarope de alta maltose como substituição parcial dos açúcares fermentescíveis do malte, na redução da cor, foi totalmente eficaz, como também para o aumento na luminosidade e menores quantidades de proteínas. Por fim, para promover mais eficiente complexação entre proteínas-polifenóis, seriam necessárias quantidades maiores de lúpulo. Assim sendo, mostos concentrados feitos a partir de extrato de malte concentrado possuem grandes potencialidades e levam a crer que acrescentam mais vantagens do que desvantagens para a produção de cerveja.

Palavras-chave: Bebidas; Cerveja; Extrato de malte; Fervura; *Trub*.

ABSTRACT

The use of extract malt concentrated as beer raw material until today little was studied. It is known that to produce clear beers and without sweet residue, it is a challenge for this ingredient. However, beers produced from extract malt concentrated, need lesser investments when if compared with the traditional method, therefore it is saved in man power, space and energy. Thinking about this, the work had as objective, to produce differents worts hopped concentrated formulated as experimental design applied, to characterize the beers produced with these worts, to study the use of boiled must of high maltose with the purpose of reduction of the color and protein and to verify, during the boil, occured interactions between malt/adjunct, hop and time how much to the color, bitter taste, polyphenol and proteins. It was verified that worts produced with extract of malt concentrated have slower fermentations, the gotten products had characteristics similar to the beer Pilsen type. During the boil, the time was more important for production of darker beers. Despite this, the use of high maltose syrup as partial substitution of the fermentable sugars of malt, in the reduction of the color was total efficient, as also for the increase of the luminosity and minors amounts of protein. Finally, to promote more efficient complex between proteins-polyphenols, they would be necessary more of hop. Thus being, made intent worts from extract of malt concentrated have great potentialities and lead to believe that they add more advantages of that disadvantages for beer production.

Keywords: Brewing; Beer; Malt extracts; Wort boiling; Trub.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o mercado brasileiro de cerveja encontra-se entre os quatro maiores do mundo, ficando apenas atrás de países como Estados Unidos, China e Alemanha, respectivamente.

No ano de 2006, o volume das vendas de cerveja no Brasil está previsto, em 9,45 bilhões de litros, mais um recorde histórico que constitui um crescimento de 5% em relação ao ano anterior.

Mas não só as grandes cervejarias. Hoje, a cada ano, surgem no Brasil de 8 a 10 novas microcervejarias. Esse setor ainda é pequeno quando comparado ao americano e alemão, porém, a tendência é haver segmentação neste mercado, surgindo oportunidades para as pequenas cervejarias se destacarem pelo diferencial do produto e pelo atendimento. Para tanto, as microcervejarias, muitas vezes, não têm experiência ou recursos para analisar matérias-primas cervejeiras com qualidade ou uniformidade devido à pequena escala de produção (PAIK, LOW & INGLEDEW, 1991).

Dentre as matérias-primas cervejeiras mais “recentes”, atualmente, encontram-se: (i) xarope de alta maltose (adjunto) e (ii) extrato de malte concentrado. Diferentemente do anterior, o extrato de malte concentrado ainda é pouco estudado sua aplicação na produção de cerveja, porém, sabe-se que o desafio é obter cervejas claras e sensorialmente aceitáveis, com menor resíduo adocicado. No entanto, ambos citados oferecem inúmeras vantagens como facilidade de uso, armazenagem e uniformidade ao produto final.

Por último, cervejas produzidas a partir de extrato de malte concentrado, necessitam de menores investimentos quando se comparado ao método tradicional pois, economiza em mão-de-obra, espaço e energia e ao mesmo tempo tem-se bom rendimento durante o processo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Produção de mosto concentrado lupulado para produção de cerveja, visando a eliminação das etapas de mosturação, fervura e lupulação nas cervejarias.

2.2. Objetivos Específicos

- Verificar a aplicabilidade do extrato de malte concentrado como uma das matérias-primas cervejeiras para produção de cerveja semelhante tipo *Pilsen*;
- Estudar o uso de xarope de alta maltose para redução na intensidade da cor e na quantidade de proteínas no produto final;
- Utilizar método estatístico para avaliar, durante a fervura, interações ocorridas entre malte:adjunto, lúpulo e tempo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Mercado de cerveja em expansão no Brasil

No mundo, o Brasil é o quarto maior produtor de cerveja, com 6% da produção mundial e com um consumo per capita relativamente baixo de 47,6 litros/ano (SINDICERV, 2004) se comparado a outros países (FIGURA 1).

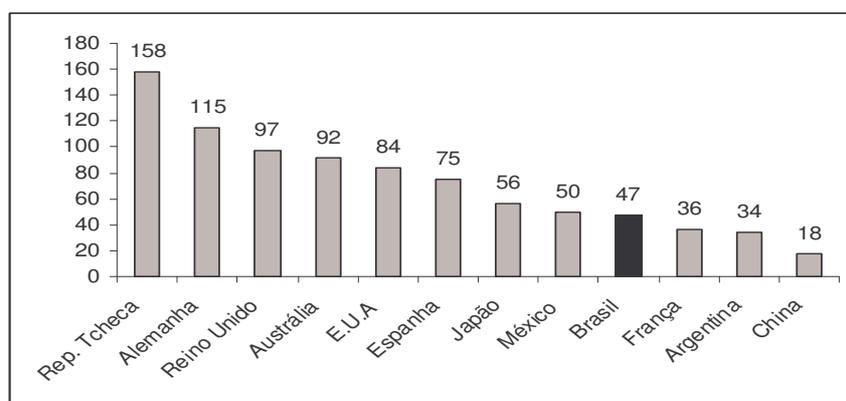
Só para o ano de 2006, o volume das vendas de cerveja no Brasil está previsto para mais um recorde histórico, na marca de 9,45 bilhões de litros. Um crescimento de 5% em relação ao ano anterior.

Baixos custos de produção, disponibilidade de mão de obra qualificada (setor emprega mais de 150 mil pessoas em postos diretos e indiretos), estabilização da inflação, queda no risco-país e perspectivas de crescimento das economias domésticas têm atraído novos investidores e, conseqüentemente, impulsionado a expansão do mercado de cerveja (IROKAWA, 2005). Além disso, o crescimento contínuo da população¹ demonstra que o subconjunto dos consumidores maiores de 18 anos que correspondente a 42% da população, deverá aumentar mais de 4% ao ano. Como quem define o crescimento do mercado consumidor é esse grupo, as perspectivas são realmente muito boas. Como conseqüência, mais de 2,5 milhões de consumidores potenciais chegam ao mercado a cada ano fazendo aumentar o consumo per capita (FIGURA 2).

Com uma capacidade produtiva, nos dias atuais, em torno de 16 bilhões de litros/ano, a produção e a comercialização oscilam devido ao consumo ser também dependente da sazonalidade - maior consumo nos meses de verão e em períodos de festas e grandes eventos como o carnaval e a copa do mundo. Diferentemente das regiões nordeste, norte e centro-oeste, isto ocorre em menor grau devido ao clima ser quente em boa parte do ano (IROKAWA, 2005).

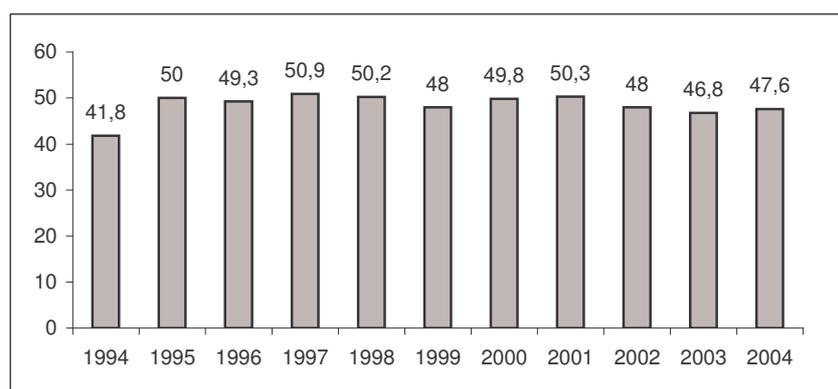
¹ o crescimento demográfico para os próximos cinco anos é de 1,5% ao ano.

Dentro das expansões do mercado, está a tendência mundial das grandes cervejarias do mundo de incorporar outras cervejarias, a fim de aumentar a participação no mercado e diminuir cada vez mais os custos de produção, principalmente através de uma sinergia administrativa. Um exemplo disso são as trocas de ações entre a brasileira AmBev com a belga Interbrew feitas recentemente em 2004, criando a maior fabricante de cerveja no mundo com cerca de 136,3 bilhões de hectolitros/ano (LAPLANE, 2004). (TABELA 1)



Fonte: SINDICERV, 2002-2003 (atualização não disponível)

FIGURA 1 - Consumo per capita (L/habitante) de cerveja em diversos países, incluindo o Brasil.



Fonte: SINDICERV, 2005.

FIGURA 2 - Evolução do consumo per capita de cerveja no Brasil até 2004

TABELA 1 - Cinco maiores cervejarias do mundo em 2004*.

Ranking	Companhia	Volume (bilhões/hL)
1 ^a	Interbrew-Ambev	136,3
2 ^a	Anheuser-Bush	126,9
3 ^a	SABMiller	126,1
4 ^a	Heineken	85,7
5 ^a	Coors-Molson	60,0
6 ^a	Carlsberg	45,0

* após fusão Ambev-Interbrew e Molson-Coors

Fonte: IROKAWA, 2005

Mas o mercado não é formado apenas pelas grandes cervejarias. Hoje, a cada ano surgem de oito a dez novas microcervejarias no Brasil, um dos segmentos do mercado nacional de cerveja em contínuo crescimento.

3.2. Produção alternativa de cerveja

As produções em escala começaram no final do século XIX na Europa, especificamente na Inglaterra e nos Estados Unidos, aonde atualmente possuem o setor mais bem organizado, com legislação própria, associações de cervejeiros entre outros.

Em 1979, os Estados Unidos tinham apenas duas microcervejarias (HARDWICK, 1994).

Atualmente, esse segmento leva o nome de *Craft Brewing*. São mais de 1.400 produtores de cerveja que inclui as microcervejarias, os *brewpubs* e as cervejarias regionais nos quais o foco é criar produtos diferenciados, de alta qualidade e produzidos com elevada porcentagem de malte (BREWERS ASSOCIATION, 2006).

A *Brewers Association* cita ainda a atividade de *home brewer* - apreciadores, consumidores comuns da bebida que fazem da produção de cerveja caseira uma atividade social e, em alguns casos, um mercado informal.

Acredita-se que essa atividade vem de mais de cinco mil anos atrás. Particularmente nos Estados Unidos, durante a Lei Seca (1920-1933), com a proibição na produção de bebida alcoólica, transporte e comercialização (BREWERS ASSOCIATION, 2006), houve um “boom” no número de barris produzidos em casa. Com isso, a atividade passou a ser vista como ilegal (PAPAZIAN, 1989).

Em 1933, a proibição foi suspensa e então só em 1979 a prática de se fazer bebida alcoólica em recintos domésticos foi legalizada e reconhecida pelo governo americano. Ainda hoje, cada estado tem sua legislação para esse tipo de atividade.

Os chamados “*beer kits*” ou “*home brew kits*” entre outras nomenclaturas recebidas são comercializados em lojas especializadas na venda de suprimentos, equipamentos e ingredientes que incluem extrato de malte em pó ou xarope, levedura cervejeira e lúpulo.

Alguns *kits* já lupulados só necessitam de uma simples diluição com água para receberem a levedura. Com duas semanas ou mais, dependendo do processo escolhido e tipo de cerveja feita, a bebida está pronta para ser envasada (BURT, 2003; PAIK, LOW & INGLEDEW, 1991).

Por final, Schindler (2001) cita a facilidade na produção, investimento baixo e a exclusividade de se fazer a própria bebida como os principais motivos para ser tornar um *home brewer*.

No Brasil, o surgimento de pequenas produções começou no final da década de 80. Sendo ainda muito recente, pouco a pouco, a cerveja artesanal - produzida por microcervejarias, conquista seu espaço no mercado nacional. Hoje são mais de 50 microcervejarias por todo país (ABMIC, 2006).

Diferentemente dos Estados Unidos, o Brasil apresenta um mercado ainda muito tímido nesse segmento nomeado de “produção alternativa de cerveja” (KALNIN, 1999).

As atuais microcervejarias apostam em tipos de cerveja diferente da *pilsen*² como *ale*, *bock*, *wiezen* e *stout*, entre outras e contam com tecnologia em equipamentos semelhante à das grandes fábricas, mas com a diferença na escala de produção.

Segundo uma publicação da Gazeta Mercantil de julho de 2006, as pequenas cervejarias, que são artesanais e regionalizadas, têm conquistado seu espaço. Prova disso é que a participação de mercado dessas pequenas deu um salto em uma década: de 1,5%, em 1995, para 10,2%, em 2005 (previsto 11% a 12% em 2006).

Somando-se toda a produção das microcervejarias, o volume total estimado ficaria em torno de 250 mil hectolitros/ano, o equivalente a 0,3% do volume total produzido no país (ABMIC, 2006). Apesar da tendência do mercado tornar-se regional para pequenas cervejarias, as grandes cervejarias não vêem o crescimento desse nicho de mercado como competição e sim, acreditam que atraindo mais consumidores, as possibilidades de vendas aumentam. (KALNIN, 1999).

As cervejarias maiores também aproveitam a possibilidade de parcerias com as pequenas cervejarias. Um exemplo disso é a AmBev que possui contrato com duas microcervejarias para a venda de duas das suas três marcas (SEBRAE, 2006).

O investimento é alto e segundo BALDEZ (2006), é mais vantajoso quando se fabrica e vende no próprio estabelecimento para o consumidor final, permitindo uma margem de lucro de até 100% sobre o investimento na produção.

² 98% de toda cerveja produzida no Brasil é do tipo Pilsen (Rosa et al., 2006).

As instalações podem variar de 200 m² até uma área de mais de 1000 m². Assim como a produção de 1.000 a 10.000 mil litros/dia. Em relação aos processos e equipamentos são praticamente os mesmos de uma grande cervejaria. O que difere são as exigências tecnológicas quanto à estabilidade físico-química que numa cervejaria é bem maior e a flexibilidade de se fazer diferentes processos, tipos de cerveja que a grande não faz.

Algumas cervejarias e microcervejarias, visando aumento da produtividade com a necessidade de menores investimentos na produção, estão optando pelo o aumento do extrato inicial de fermentação (15 até 18°P³) e posteriormente diluição com água. Processo este conhecido como de alta densidade ou *high gravity*, resulta num aumento de 25% a 35% da produtividade.

Essa tecnologia apresenta diversas vantagens e desvantagens em relação a convencional. Como principais vantagens podem-se citar: (i) maior produção de cerveja; (ii) redução de custos com mão-de-obra, energia, sanitização e tratamento de efluentes; (iii) aumento da produção de álcool por unidade de extrato fermentescível; (iv) pode-se ter maiores proporções de adjunto incorporados ao mosto; (v) maior aproveitamento das instalações da planta e como desvantagens: (i) não é apropriado para cervejas feitas com 100% de malte – sobrecarga nas tinas de mostura e filtração; (ii) diminuição na eficiência na extração dos açúcares do malte na etapa de mostura; (iii) alta concentração de açúcares podem influenciar negativamente no desempenho da levedura (VENTURINI FILHO, 2005).

No entanto, novas tecnologias são relativamente escassas no mercado de cerveja, quase sempre se restringindo às novas formas de controle do processo produtivo. Diante disso, o investimento para cervejarias menores, sempre acaba voltado para o aumento de capacidade de produção.

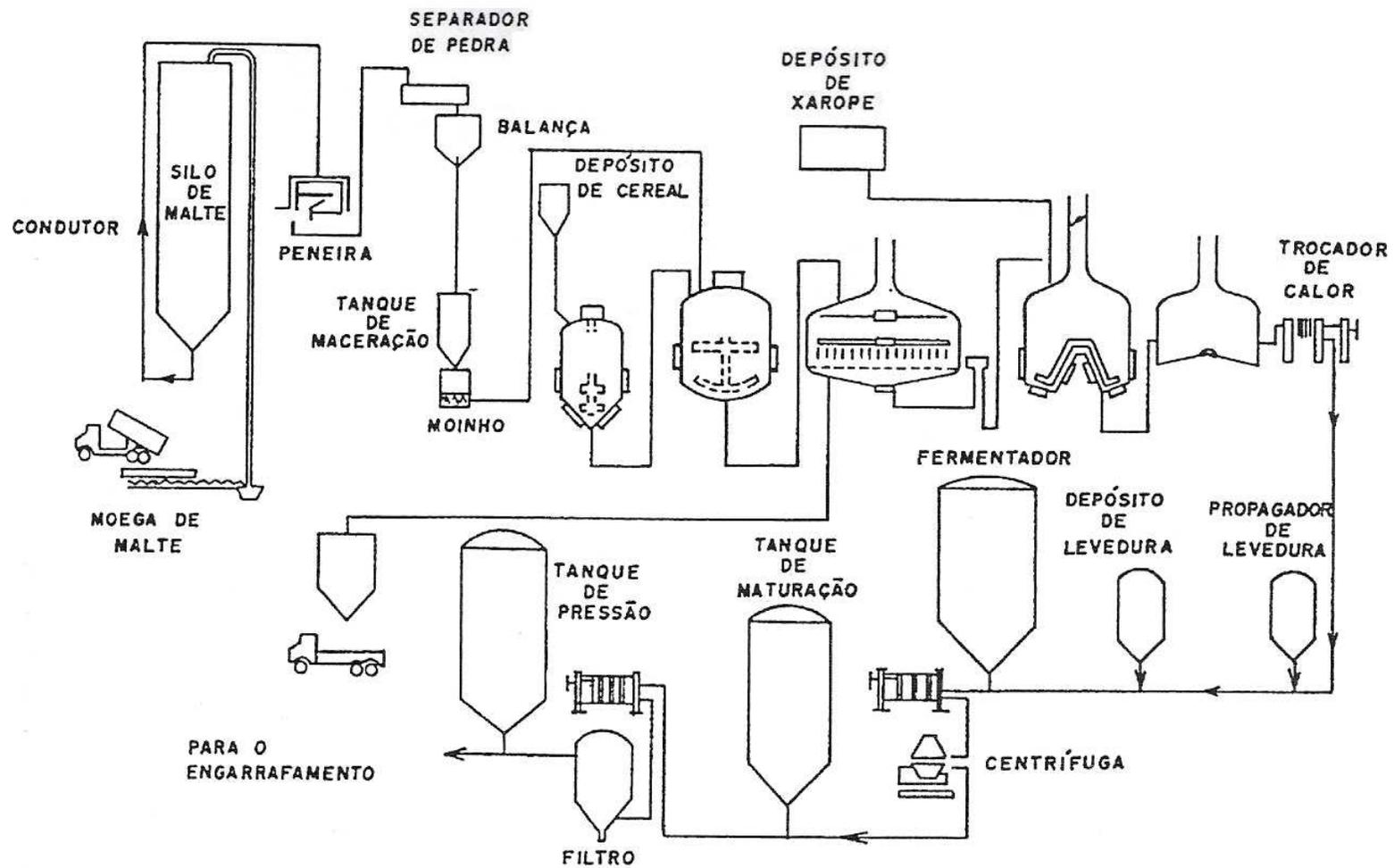
³ °P - Grau Plato: medida de densidade tradicional utilizado.

3.3.Tecnologia cervejeira

É sabido que o uso de grãos na alimentação data de 10.000 anos atrás. Só o cultivo da cevada tem mais ou menos 9.000 anos e acredita-se que a descoberta da cerveja está intimamente ligada com a fabricação do pão feito a partir de malte (HITCHCOCK, 1994).

O processo realizado na produção original de cerveja é muito diferente se comparado com o processo moderno, onde se tem separadamente a mosturação, fervura da etapa de fermentação. Provavelmente as primeiras cervejas foram feitas por um processo contínuo de mosturação e fermentação (HITCHCOCK, 1994).

Resumidamente, as etapas envolvidas no fabrico, nos dias atuais, numa cervejaria estão representadas pelas FIGURAS 3 e 4, TABELA 2.



.FIGURA 3 - Esquema simplificado do processo para produção de cerveja.

TABELA 2 - Etapas do processo para produção de cerveja.

	ETAPAS	DESCRIÇÃO
I. PRODUÇÃO DE MOSTO	Moagem do malte	<p>Pode ser:</p> <ol style="list-style-type: none"> seca (moinho de rolos, discos ou martelos): tem boa extração do malte, mas a fragmentação da casca leva a um gasto de tempo maior na filtração. Este problema pode ser contornado, com injeção de vapor no extrato tornando a casca gomosa, diminuindo sensivelmente a fragmentação; úmida (moinhos de rolo): preserva-se a casca do grão de malte que resulta posteriormente numa boa filtração e maior rendimento na mostura. <p>Obs. O que define qual processo a ser utilizado é o tipo de filtro disponível na cervejaria.</p>
	Mosturação	Transformação das matérias-primas cervejeiras (água, malte, adjunto e lúpulo) em mosto. O objetivo é converter o amido em açúcares fermentescíveis e produzir a maior quantidade de extrato possível.
	Filtração	<p>É feita em duas etapas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1ª: separação dos sólidos do malte; 2ª: lavagem do bagaço com água quente (<i>spray ball</i>) que enxágua os açúcares remanescentes do malte. A sobra de malte é reaproveitada como ração animal.
	Fervura	É feita adição de lúpulo ao mosto (lupulação) Confere estabilidade biológica, bioquímica e coloidal ao mosto.
	Clarificação	Separação do <i>trub</i> quente do mosto. Existem diferentes processos para a clarificação, sendo o <i>whirlpool</i> mais utilizado para a separação.

	Resfriamento e aeração	<p>O rápido resfriamento serve para evitar a multiplicação de microrganismos e a formação de DMS (dimetilsulfito) como também a eliminação de componentes causadores de turbidez (<i>trub frio</i>).</p> <p>O mosto passa por um trocador de calor de placas e é resfriado de 100 °C para 6 -12 °C (cervejas de baixa fermentação) e 14-16 °C (cervejas de alta fermentação). No entanto, baixas concentrações de oxigênio desfavorecem o crescimento da levedura. Por este motivo, é necessário promover a aeração do mosto. A maioria das cervejarias introduz ar estéril no mosto frio.</p>
II. PROCESSO FERMENTATIVO	Fermentação	Com o mosto resfriado e oxigenado, inocula-se a levedura. É a etapa mais complexa da produção de cerveja, cujo controle é o mais difícil. A fermentação primária pode durar de 4 a 14 dias. Durante este processo, as leveduras metabolizam os açúcares do mosto e os transformam em álcool e CO ₂ . O tipo de levedura determina o tipo de fermentação. Exemplos: alta (<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>) ou baixa (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).
	Maturação	Também chamada de fermentação secundária. O objetivo é promover sedimentação de: (i) material amorfo; (ii) componentes que causam turbidez a frio e (iii) células de levedura, que posteriormente são removidas do tanque e reutilizadas em fermentações subseqüentes. O processo a 0 °C, pode durar de 4 a 42 dias.
III. ACABAMENTO	Filtração	Geralmente em microcervejarias, não é realizado já que o objetivo é manter fielmente as características originais da cerveja. Nas cervejarias comerciais, a filtração é indispensável para remoção do excesso de leveduras, clarificação e estabilização
	Carbonatação	Durante a maturação, a cerveja pode ser naturalmente carbonatada pelo CO ₂ produzido pela ação da levedura. No entanto, dadas as dificuldades de controle da fermentação final, e do nível de CO ₂ no produto, as cervejarias normalmente carbonatam no fim da produção quando a bebida vai para a adega de pressão, pronta para ser envasada.

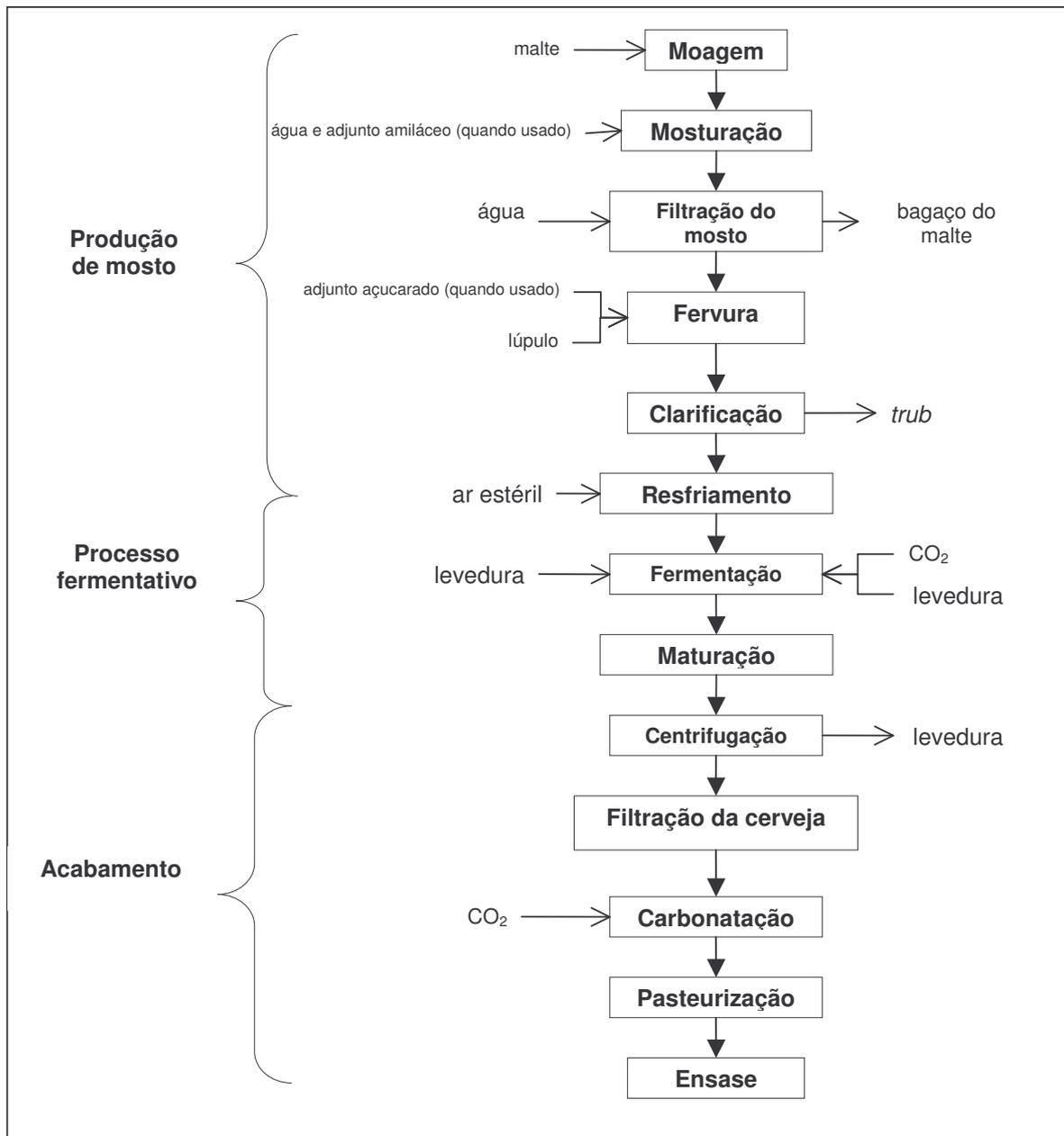


FIGURA 4 - Fluxograma das etapas de processamento na produção de cerveja.

3.4. Ingredientes cervejeiros

3.4.1. Malte

Malte é o termo técnico que define a matéria-prima resultante da germinação de qualquer cereal sob condições controladas. Há malte de trigo, centeio entre outros cereais (KALNIN, 1999).

3.4.1.1. Malteação

É um processo, no qual se sintetizam e mobilizam enzimas liberadas do grânulo de amido (endosperma). As enzimas produzidas irão participar da quebra de macromoléculas presentes nas matérias-primas cervejeiras durante a mosturação.

Nos últimos anos houve muitos avanços no processo do malteado. Atualmente, para se obter o malte de cevada, por exemplo, leva-se de 8 a 9 dias. Há 50 anos, o mesmo processo levava 14 dias (VARNAM & SUTHERLAND, 1997). Esses avanços são devidos a um melhor conhecimento da fisiologia do grão da cevada. Hoje, a germinação pode ser acelerada e uniformizada através da adição e da remoção do ácido giberélico que produzido no escutelo da cevada, difunde-se para a aleurona e comanda a produção de enzimas hidrolíticas (amilases, proteases, glucanases, entre outras) que serão posteriormente secretadas.

Em especial, as glucanases merecem atenção, pois são responsáveis pela degradação dos beta-glucanos presentes nas paredes das células do endosperma. Os beta-glucanos elevam a viscosidade do mosto, dificultam a filtração, como também causam turvação no produto final.

O processo de malteação (FIGURA 5) é dividido em: maceração, germinação e secagem.

Na etapa de maceração, a cevada já limpa (sem sujidades, grãos estranhos ou meios-grãos) é colocada em tanques para ser macerada com água. Essa água de maceração deve estar na faixa de 5 a 8°C, sendo trocada de 6 a 8 horas. Durante essa troca, o oxigênio necessário para a respiração é injetado nos tanques. No embrião há síntese de ácido giberílico e hormônios da planta que irão se difundindo pela aleurona (HARDWICK, 1995). O processo termina quando a cevada atinge 42-48% de umidade, com o aparecimento da radícula, ou seja, em torno de dois dias (VENTURUNI FILHO, 2000).

Durante a germinação, ocorre a hidrólise do amido, proteínas e produção de enzimas. No período de germinação, a cevada recebe corrente de ar úmido (oxigênio) que vai servir para resfriar o tanque, mantendo umidade e temperatura na faixa de 15-21°C, servindo também para arrastar o gás carbônico produzido através da respiração do grão. Quando a estrutura embrionária atinge dois terços do comprimento do grão, interrompe-se a germinação no processo de secagem.

Na secagem, elimina-se o sabor “verde” e se incorpora mais sabores característicos do grão de cevada. Ela ocorre em duas etapas: (i) inicialmente, se começa à baixas temperaturas e depois aumenta-se de modo a não destruir a atividade enzimática; (ii) na última etapa pode-se utilizar temperaturas de 100°C ou maiores.

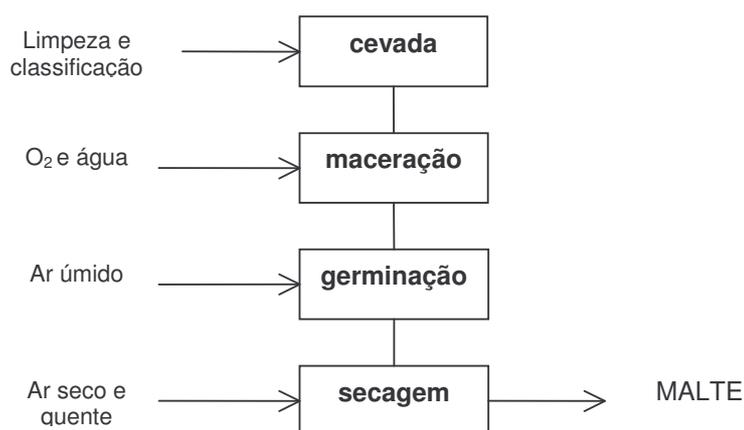


FIGURA 5 - Fluxograma do processo de malteação.

Durante a malteação, forma-se ainda a s-metil metionina (SMM), importante composto de aroma na cerveja que com o aquecimento durante a secagem dá origem ao dimetilsulfito (DMS) responsável por uma qualidade de aroma ruim. No entanto, mantendo a temperatura de aquecimento abaixo de 60°C, consegue-se uma mínima conversão de SMM em DMS (VARNAM & SUTHERLAND 1997).

A cevada, diferentemente de outros cereais, apresenta menores dificuldades na técnica de malteação. Possui alto teor de amido, boa palatabilidade, quantidades de proteínas suficientes para a nutrição das leveduras e formação de espuma. Por outro lado, se for proveniente de processos de malteação mal conduzidos implicará em dificuldades de sacarificação e filtração do mosto, turvação e alterações no sabor e espuma no produto final.

Com a identificação das proantocianidinas (polifenóis) derivadas do malte como agente de turbidez na cerveja, o uso de maltes com níveis menores desse polifenol, como por exemplo, a variedade *Galant*, tem sido cada vez mais procurada.

Como alternativa à cevada, o sorgo é um cereal de grande potencial para produção de cerveja, pois seu cultivo pode ser feito em locais seco e quente (diferentemente da cevada que em temperaturas acima de 18°C, apresenta uma produção de enzimas muito inferior ao ótimo), possui perfis de açúcares e aminoácidos suficientes para a levedura utilizar na fermentação (ODIBO; NWANKWO & AGU, 2002) e a bebida obtida, possui caráter sensorial muito semelhante à produzida a partir do tradicional malte de cevada (OWUAMA, 1997). Apesar disso, ainda são necessários mais conhecimentos nos processos de malteação, mosturação e fermentação a partir desse cereal (OWUAMA, 1997).

Outros cereais alternativos como o milho e trigo malteados, apresentam dificuldades para se produzirem cervejas menos turvas (VENTURINI FILHO, 2000). Um exemplo são as cervejas feitas do trigo malteado (as cervejas brancas ou *Weissbier*) que são produtos de maior turbidez do que as cervejas feitas do malte de cevada, por exemplo.

Essa turbidez excessiva nas cervejas de trigo, conforme DELVAUXS et al. (2004) está diretamente relacionado às proteínas provenientes do glúten, especialmente a gliadina, que interagem com polifenol, formando complexos, causando o efeito negativo.

3.4.1.2. Extrato de malte

Pela legislação brasileira (BRASIL, 1997), a definição de extrato de malte está como o produto resultante da desidratação do mosto de malte até o estado sólido, ou pastoso, devendo apresentar as propriedades do mosto de malte quando reconstituído, sendo permitido substituições do malte de cevada pelo extrato.

É fonte de proteína, vitamina B, incluindo tiamina, riboflavina e niacina, possuem baixo teor de gordura e são ricos em maltose e glicose, aproximadamente em média 50% e 10%, respectivamente (HANSEN & WASDOVITCH, 2005). (TABELA 3).

O extrato de malte pode ser comercializado nas formas de xarope ou pó. Na forma de xarope o custo é menor do que em pó, mas pela alta viscosidade, requer equipamentos especiais para bombeamento. Já na forma de pó, deve-se ter cuidado com a estocagem, devida a sua alta higroscopicidade.

Dependendo da aplicação, pode-se ajustar durante a produção o sabor, cor, quantidades de sólidos, atividade enzimática e proteínas (aminoácidos livres) (HICKENBOTTOM, 1996).

TABELA 3 - Composição de diferentes tipos de extratos de malte.

Propriedade em 100g	<i>Light</i>	<i>Standard</i>	<i>Diastatic</i>	E. M ^a especial	E. M ^a torrado
lipídeos (g)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
total de carboidratos	90	88	88	88	88
proteína (g)	6	8	8	8	7
cálcio (mg)	80	80	80	80	80
sódio (mg)	100	100	100	100	100
ferro (mg)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
aminoácidos livres (ppm)	3,000	3,000	3,000	3,000	2,000
maltose ^b	60-70	60-70	60-70	60-70	20-30
pH (10% solução)	5-6	5-6	5-6	5-6	4,5-6
perfil de carboidratos (% na base seca)					
glucose	13	13	13	13	5
maltose	47	45	45	45	16
maltotriose	13	13	13	13	8
Dextrinas	17	17	17	17	58

^a extrato de malte

^b açúcares redutores como a maltose

Fonte: HANSEN & WASDOVITCH, 2005

Portanto, ingredientes à base de malte oferecem muitas aplicações em diferentes tipos de formulação.

3.4.1.3. Produção do extrato de malte concentrado

A evaporação é conduzida sob vácuo, onde é convertido num xarope com aproximadamente 80% de sólidos. Com elevado teor de sólidos e baixa atividade de água (a_w : 0,7-0,75), têm-se barreiras para o desenvolvimento de microrganismos.

Outros fatores que favorecem a estabilidade microbiológica são: pH, acidez e temperatura durante o processo.

Dependendo da temperatura empregada, podem-se produzir extratos de malte com alta, média ou zero atividade enzimática, de tonalidades diferentes e, portanto sabores diferentes (notas de café, chocolate e caramelo). As etapas finais da sua produção incluem: filtração, resfriamento e empacotamento (HICKEBOTTOM, 1996).

Os extratos de malte em pó fabricados por *spray drying* em comparação com o extrato na forma de xarope, quando reconstituídos são similares no sabor, na cor e no perfil de açúcares. Apenas se diferenciam na atividade enzimática que é drasticamente reduzida no pó pela própria característica do seu processamento.

As aplicações do extrato são diversas. Na indústria de alimentos, usados em produtos como: granolas, barras de cereais, achocolatados, produtos de panificação como biscoitos e pães, entre outros. Em especial para os produtos de panificação, o extrato de malte xarope ou em pó, dão suprimento de amilase à farinha de trigo como também contribuição de maltose, minerais, proteínas solúveis promovendo intensa atividade do fermento como também melhorando a cor, textura, formação da crosta e sabor nos produtos finais. (HANSEN & WASDOVITCH, 2005)

A aplicabilidade se estende para indústria de bebidas (cerveja) e à indústria farmacêutica na produção de suplementos para nutrição e também laxativos.

3.4.1.4. Extrato de malte com aplicação na produção de cerveja

O uso de extrato de malte é extenso nesse segmento. Eles são caros porque agregam valor de custos de produção, embalagem e transporte. Isso faz com que microcervejarias dos Estados Unidos, por exemplo, que utilizam desse ingrediente, incorpore nele adjuntos de menor valor. Porém, ainda sim, o custo usando extrato de malte na produção de cerveja é muito menor se comparado pelo método tradicional.

Muitas microcervejarias, *brewpubs* e *home brewer* não possuem experiência ou recurso para analisar as matérias-primas cervejeiras. Isso se deve pela própria natureza de fabricação em pequena escala como também pela falta de informações suficientes e conhecimento sobre a qualidade e composição dos mostos feitos a partir de extrato de malte (PAIK, LOW & INGLEDEW, 1991).

Segundo LODAHL (1993), é necesssário conhecer as peculiaridades do processo para se produzir excelentes cervejas a partir de extrato de malte. Fermentação lenta, resíduo adocicado no sabor, e obtenção de cervejas claras, são as principais dificuldades encontradas com o seu uso.

Mostos produzidos a partir de extrato de malte, na maioria das vezes oferecem problemas durante a fermentação. Esses problemas são causados em grande parte pelo baixo nível de FAN (aminoácidos livres) que levam a uma lentidão no processo fermentativo. Cervejas produzidas pelo processo *high gravity* também apresentam os mesmos problemas (LODAHL, 1993).

Um estudo comparativo de mosto padrão, feito pelo método tradicional e mosto com extrato de malte e a relação deles com as características de fermentação, confirmam que mostos produzidos a partir de extrato de malte possuem baixos níveis de FAN e coloração mais escura em relação ao mosto referência.

Valores de FAN encontrados em mostos com extrato foram de 80mg/L enquanto que no mosto referência foi de 220mg/L. Em geral esse valor fica entre 150mg/L a 200mg/L de mosto. Fato observado é o tempo que se leva para um mosto com extrato de 12ºP, cair para 6ºP. O tempo varia de 45h a 173h comparado com o referência de 51h. Esta variação reforça a forte correlação de baixos níveis de FAN com fermentações lentas ou incompletas. (PAIK, LOW & INGLEDEW, 1991).

SLEIMAN (2002) reforça os problemas encontrados durante a fermentação com o uso de extrato de malte em relação aos mostos feitos com malte moído pelo método tradicional e sugere a existência um agente inibidor, possivelmente oriundo da caramelização parcial dos açúcares ou então formado a partir de um precursor durante a fermentação, através do metabolismo da levedura. COGHE et al. (2005), cita que compostos provenientes da reação de Maillard de maltes escuros, causam um efeito tóxico nas leveduras prejudicando a fermentação.

Em relação ao resíduo de sabor adocicado, provavelmente seja devido ao tempo e temperatura em que o produto permaneça em concentração e também por fermentações lentas ou incompletas já citadas. Já a obtenção de cervejas claras, do tipo *lager* de sabor suave e médio teor alcóolico com boa aceitabilidade, é outro grande desafio, pois a facilidade maior é na produção de cervejas escuras e do tipo *ales* de sabor acentuado e médio teor alcoólico (OUTTERSON, 1993).

A adição de xarope de alta maltose é válida para se obter cervejas mais claras, porém menos encorpadas. Aumentar o tempo de fermentação para 21 dias com leveduras de baixa fermentação (*lager*), melhora a atenuação e minimiza o resíduo do sabor doce. Outra opção é o uso de sulfato de cálcio e sal não iodado na água de diluição, os quais ajudam as leveduras metabolizarem os açúcares complexos contidos no extrato.

É necessário que os fabricantes de extrato de malte dêem uma atenção especial às qualidades requeridas para indústria de cerveja e não somente para a indústria de panificação como ocorre.

3.4.2. Lúpulo (*Humulus lupulus*)

O lúpulo, membro da família *Cannabinaceae*, é encontrado na Ásia, Europa e América do Norte.

As flores femininas são ricas em glândulas que contém lupulina resina composta por diferentes ácidos e óleos responsáveis pelo aroma e sabor característicos da cerveja.

Considera-se que existem duas classes de variedades de lúpulo: as ricas em alfa-ácidos e as variedades ricas em aroma, com altos níveis de óleos essenciais: terpenos e derivados oxidados – ésteres, álcoois e carbonilas (REINOLD, 1997).

O alfa-ácido é o composto de maior importância, pois além de ter ação antisséptica, quando isomerizado (iso-alfa ou iso-humulonas) durante a fervura, torna-se solúvel atribuindo amargor à cerveja. Outros compostos como o próprio alfa-ácido (humulonas), beta-ácido (lupulonas) e taninos não têm a qualidade de amargor desejável como o iso-alfa.

Portanto, hoje, o maior interesse é elevar quantidades de alfa-ácidos no lúpulo. Há variedades tradicionais que possuem 3,5-5%; outras como *Brewer's Gold*, *Northern Brewer* e *Hallertau Perle* têm 7-10% e outras como *Pride of Ringwood*, *Galena*, *Target*, *Yeoman*, um alto teor (11-13%) (HARDWICK, 1995).

Na comercialização de lúpulo, tem-se: lúpulo em *pellets*, lúpulos em *pellets* enriquecidos com alfa-ácidos, extrato de lúpulo, extratos isomerizados e óleo (HARDWICK, 1995). Os lúpulos enriquecidos são obtidos mais por concentração física que por seleção genética, apresentam menores quantidades de polifenóis e, no entanto as conseqüências disso é motivo para as mais variadas opiniões (VARNAM & SUTHERLAND 1997).

Segundo FORSTER, PATINO & SLAUGHTER (2000), em estudo comparativo realizado entre cervejas com e sem extrato isomerizado, mostrou que para as cervejas lupuladas, obteve-se melhor estabilidade microbiológica e de espuma em relação às produzidas sem. Além disso, as cervejas lupuladas têm concentrações mais baixas de zinco, ferro e cobre. No entanto, quantidades de polifenóis e ácidos graxos insaturados presentes no extrato, levam à instabilidade física e sabor ruim, respectivamente.

Em resumo, a composição típica do lúpulo comercial é: (i) 2-15% de alfa-ácidos, convertidos em iso-humulonas durante a etapa de fervura do mosto; (ii) 2-9,5% de beta-ácidos; (iii) 5-24% de resinas que têm sua composição um tanto desconhecida em que se duvida de algum valor na produção de cerveja; (iv) 0,03-2% de óleo que dão um aroma mais "fino" à cerveja; (v) 10-20% de carboidratos insolúveis em água. Incluindo aqui 2-3% de açúcares redutores; (vi) 5-9% total de

minerais de pouca importância; (iv) 8-12% de umidade. Maior destaque para o alfa-ácido, os óleos essenciais e as substâncias minerais.

Possui ainda 0,8-1,5% em polifenóis, dentre eles: quercetina, isoquercetina, rutina, catequina e epitacatequina responsáveis por problemas de instabilidade físico-química e precipitação de complexos com macromoléculas. No entanto a contribuição de polifenóis para a cerveja vem muito mais do malte do que pelo lúpulo (BRIGGS et al, 2004).

As substâncias nitrogenadas - proteínas (0,19%-0,63%) – provenientes do lúpulo, desempenham diversos papéis na estabilidade da bebida, na formação de corpo, estabilidade de espuma e estabilidade microbiológica (baixos teores de aminoácidos livres).

3.4.3. Adjuntos

Atualmente adjuntos sem maltear é amplamente utilizado. Tanto por razões econômicas como também por proporcionarem características especiais ao produto final. (VARNAM & SUTHERLAND, 1997).

De acordo com VARNAM & SUTHERLAND (1997), classificam-se os adjuntos em duas classes distintas: (i) adjuntos açucarados e (ii) adjuntos amiláceos.

Os adjuntos açucarados sobressaem os xaropes feitos de milho (alta maltose). Há também o açúcar comum (sacarose) e o açúcar invertido (xarope de glicose e frutose) provenientes da cana-de-açúcar ou beterraba que conforme VENTURINI FILHO (2000), quase não mais utilizados no processo de fabricação. Esses carboidratos constituem ótimos complementos pelo fato de oferecerem diretamente ao mosto, açúcares fermentescíveis e baixos teores de proteína ao fato de não necessitarem de pré-tratamento (sacarificação). Outra vantagem é o menor volume para armazenamento devido a sua concentração.

Em contrapartida, os adjuntos amiláceos são tipicamente cereais sem maltear. Os cereais mais utilizados são: grits de milho, quirera de arroz, trigo, sorgo e a própria cevada não malteada (VENTURINI FILHO, 2000).

A importância do adjunto é substituir o malte na produção de cerveja, o que significa substituir os açúcares fermentescíveis do malte na mesma proporção. Por serem de menor custo, têm grande importância econômica. Além disso, melhoram a qualidade físico-química e sensorial da cerveja, reduzem o teor de nitrogênio solúvel no mosto e conseqüentemente, melhoram a estabilidade coloidal e, portanto aumenta a vida de prateleira do produto. Cervejas produzidas com adjunto apresentam cor mais clara e maior brilho (VENTURINI FILHO, 2000).

Pela legislação brasileira, o nível de substituição do malte pelo adjunto pode chegar até 80%. Não há regra geral para utilização de adjunto; cada cervejaria define a proporção malte e adjunto para cada tipo de cerveja que se faz.

Cervejarias brasileiras têm substituído progressivamente os adjuntos amiláceos (grits de milho e quirera de arroz) por adjuntos açucarados na forma de xarope de alta maltose em busca de maior economia e praticidade. A utilização do xarope de alta maltose dispensa a etapa de fervura do cereal durante a produção do mosto cervejeiro, economizando, portanto calor e eletricidade, além de mão-de-obra e espaço físico. Permite ainda um tempo de mosturação menor e portanto, eleva a produtividade na mosturação, bem como tem-se maior controle da fermentabilidade e conseqüentemente cervejas mais uniformes (VENTURINI FILHO & CEREDA, 1998).

Raízes e tubérculos como fécula de batata e mandioca são também usados como adjuntos, uma vez que o elevado poder aminolítico do malte de cevada permite a incorporação de 50% de amidos coadjuvantes. Entretanto, para que ocorra, uma hidrólise completa do amido dos complementos adicionados é necessário gelatinizá-los previamente para só então poder expô-los ao ataque das enzimas do malte (MATOS et al., 2005 e PERPETE & COLLIN, 2000).

Estudos realizados na produção de hidrolisados a partir de fécula de mandioca e de batata aplicados à produção de cerveja, mostraram que: (i) não há diferenças químicas e sensoriais das cervejas feitas a partir do hidrolisado de mandioca em comparação às mesmas produzidas a partir do hidrolisado de milho (VENTURINI FILHO & CEREDA, 1998) e (ii) cervejas produzidas a partir de fécula de batata, segundo MATOS et al. (2005), apesar de contribuírem com quantidades menores de açúcares fermentescíveis ao mosto, possuem menos óleo e proteína do que o milho, Com isso há melhor estabilidade de espuma e menor risco de turvação. Portanto, a necessidade de adição de estabilizantes se torna menor ou totalmente desnecessária.

3.4.3.1. Produção do xarope de alta maltose

É tradicionalmente obtido a partir da hidrólise ácida e/ou enzimática do amido de milho.

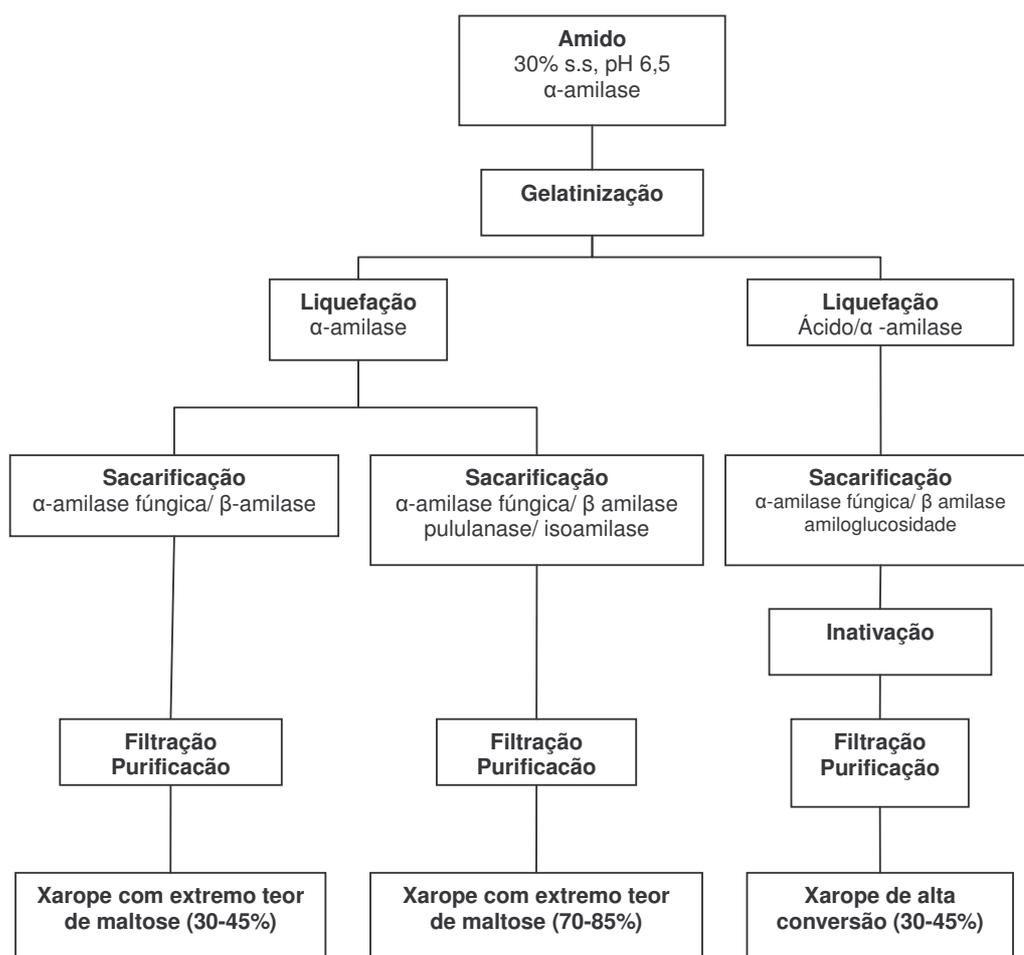
A hidrólise ácida ainda é usada, mas a enzimática traz vantagens como a especificidade do uso e produção de xaropes mais claros.

Conforme o processo utilizado, o xarope apresentará diferentes concentrações de maltose e grau de dextrose equivalente (DE) podendo ser classificado em três tipos diferentes como mostra a (TABELA 3) e (FIGURA 6).

TABELA 3 - Composição dos diferentes tipos de xarope de maltose e sua dextrose equivalente (DE).

Carboidratos (% base seca)	Xarope com alto teor de maltose	Xarope com extremo teor de maltose	Xarope de alta conversão
Glicose	0,5-3,0	1-3	35-43
Maltose	30-45	70-85	30-47
maltotriose	6-25	8-21	8-15
DE	35-50	45-60	60-70

Fonte: MALDONADO & LOPEZ (1995)



Fonte: MALDONADO & LOPEZ (1995)

FIGURA 6 - Fluxograma de produção de xarope de maltose com diferentes composições.

3.4.4. Água

Sabe-se que a quantidade de água utilizada numa cervejaria, em volume é cerca de trinta vezes maior do que se é produzido em cerveja. Isto porque, além da água para produção, há o uso para o aquecimento e resfriamento, como também para limpeza de equipamentos e lavagem de garrafas. Por este motivo, há uma preocupação no reaproveitamento e no seu tratamento após o uso.

Está presente em maior quantidade na composição da cerveja (91-98%). Por este motivo, a qualidade da água é um fator importante para se determinar a

qualidade da bebida (VENTURINI FILHO, 2000). Tem influência nas propriedades da cerveja como sabor, espuma, turbidez, cor, entre outros (HARDWICK, 1995).

Assegurar um pH desejável da mistura de malte e adjunto durante a mosturação, promover extração dos componentes de armargor e aromáticos do lúpulo, como também uma boa coagulação do *trub* durante a fervura do mosto e permitir uma fermentação asséptica são atributos da água. Portanto, para um processamento, é necessário conhecer detalhadamente a composição da água: quanto há de eletrólitos (cálcio, magnésio, sódio, sulfato, cloro, cloridrato) metais (cobre, ferro, manganês, potássio e zinco), se há contaminação microbiológica ou por pesticidas.

As principais características da água para produção de cerveja são: (i) potabilidade, incolor, inodora - águas de superfície (rio e lago) podem necessitar de tratamento para reduzir ou eliminar matéria orgânica; (ii) apresentar na fonte alcalinidade máxima de 50 ppm - dentro desse limite de alcalinidade pode-se trabalhar com água na faixa de pH de 4 a 9; (iii) ter aproximadamente 50 ppm de cálcio e (iv) teor de cloreto na forma de NaCl, conforme a preferência do sabor.

Como alternativa em alguns locais onde há um excesso de carbonato na água, utilizam-se maltes escuros, os quais são naturalmente ácidos, neutralizando a alcalinidade dos carbonatos para produção de cerveja (KING, 1993).

Atualmente, processos como osmose reversa e destilação são utilizados para eliminação de traços de metal na água. Quanto ao cloro, este pode ser removido com fervura, filtros de carvão ativado, por redução com vitamina C ou exposição direta a luz do Sol por 10 minutos (KING, 1993).

3.5. Processos cervejeiros

3.5.1. Mosturação

É considerada uma etapa crítica na produção da cerveja pelo cuidado e precisão que se deve ter com o malte, tempo e temperatura, a fim de se obter a maior quantidade de extrato, ou seja, o maior rendimento, sendo possível extrair até 65% de sólidos do malte. Para tanto, deve-se ter atenção ao tipo de moagem, que pode favorecer a ação das enzimas sobre os componentes insolúveis do malte, influenciando na formação de extrato, (REINOLD, 1997).

O processo inicialmente promove reações enzimáticas importantes (cozimento do malte moído). O resultado disso é a produção do extrato que deve ser clarificado, filtrado e fervido com lúpulo.

A mosturação pode ser realizada por decocção ou infusão. Há formação de açúcares não fermentescíveis (maltotetraose 2-6%; maltopentaose 1-2%; maltohexaose 2-6% e dextrinas superiores 15-20%) e de fermentescíveis (maltose 48-52%; glicose 12-15%; frutose 4-6% e sacarose 4-6%); decomposição de beta-glucanos (em altas quantidades interferem negativamente elevando a viscosidade, dificultando a etapa de filtração do mosto); formação de cor (o que também depende do tipo do malte que está se utilizando) e aroma.

No processo de decocção, o cozimento do mosto começa com a simples solubilização de aminoácidos e com ação das beta-glucanases (ótima ação à 40°C e inativada a 60°C / pH ótimo=5) sobre os beta-glucanos das paredes das células de amido do malte, juntamente as proteases (ótima ação à 45-55°C/ pH ótimo=5,2-8,2) do malte hidrolisam as proteínas em simples peptídeos e aminoácidos. Em seguida, com a ação das beta-amilases (ótima ação à 63°C e inativação aos 68°C/ pH ótimo=5,4-5,6) – e alfa-amilases (ótima ação à 70°C e inativação aos 74°C / pH ótimo=5,6-5,8), tem-se a sacarificação do amido e obtenção de maltose, principalmente e dextrinas (HARDWICK, 1994).

Em resumo, a sacarificação das moléculas de amido (amilose e amilopectina) ocorre com a β -amilase (exoenzima) e α -amilase (endoenzima). Primeiramente a beta cliva unicamente as ligações do amido α -1-4, duas a duas dando origem à maltose e uma β -dextrina e posteriormente, a alfa age quebrando ligações α -1-4 de forma desordenada, formando dextrinas menores e sacarídeos.

Deve-se observar que na etapa de mosturação e lavagem do bagaço de malte são extraídos também os polifenóis que dão sabor adstringente à cerveja como também escurecimento devida à formação de flobafenos, polímeros de compostos fenólicos. Quanto maior o pH do mosto maior é a extração desses polifenóis da casca do malte.

Portanto, no processo de mostura, parâmetros como pH e temperatura devem ser cuidadosamente controlados.

3.5.2. Fervura

Originalmente a fervura do mosto era feita através do fogo direto na caldeira com brasas de carvão, sistema já praticamente em desuso. Aquecimento a vapor de alta ou baixa pressão, ou com água quente são os mais atuais, cujo aquecimento pode ser gerado por camisas duplas, caldeiras com aparelhos externo de fervura, caldeiras de múltiplo estágios ou caldeiras com baixa pressão.

É a etapa na produção, de maior consumo energético. Fator, este, importante quando se pensa em gastos e economia.

O processo mais simples para se realizar fervura é em tanques abertos com agitação, porém, modelos mais modernos, consomem menos energia, – maior temperatura (160°C), em menor tempo (0,5-1,5h) – têm melhor aproveitamento do lúpulo (15%), como também diminuem as perdas dos óleos aromáticos derivados do mesmo (VARNAM & SUTHERLAND 1997).

Uma maior fixação de oxigênio ocorre à temperaturas mais elevadas. A oxigenação é favorável para a formação do *trub* quente. Quanto maior o tempo de fervura, maior a formação de *trub* (BRIGGS, et al., 2004).

Algumas das principais mudanças ocorridas durante a fervura, citadas por BRIGGS et al. (2004) são: (i) inativação das enzimas do malte; (ii) esterilização do mosto; (iii) extração e isomerização dos compostos derivados do lúpulo; (iv) coagulação de material protéico do mosto; (v) formação do complexo proteína/polifenol; (vi) formação do aroma e cor e (vii) queda do pH.

A coagulação proteica depende do ponto isoeletrico (cargas positivas iguais às cargas negativas). Estudos realizados mostram que a melhor sedimentação ocorre entre os pHs 5,0-5,2. Além disso, pH menor que 5,5 favorece a conversão dos compostos extraídos do lúpulo como também contribui para a esterilização do mosto. É certo que a destruição térmica dos microrganismos não é total, apenas elimina-se patógenos e deteriorantes do processo.

Sabe-se que as proteínas formadoras de espuma são diferentes das formadoras de turbidez e que a estabilidade da espuma é favorecida com a interação de certas cadeias de proteínas (albuminas) com os iso-alfa ácidos provenientes do lúpulo e desfavorecida pelos ácidos graxos, devido à sua ação competitiva sobre os tensoativos peptídicos.

A otimização na temperatura de fervura do mosto – menor binômio tempo/temperatura - é essencial para se obter também qualidade de espuma, pois há mais disponibilidade dessas proteínas de alto peso molecular formarem espumas firmes e estáveis. No entanto, em temperaturas de 96-110°C ao nível do mar, há um impacto na solubilidade e na habilidade dessas proteínas promoverem espuma (VAN NIEROP et al., 2004).

O desenvolvimento da cor está diretamente relacionado com a intensidade da fervura. A produção da cor está ligada à reação de Maillard, seguida da degradação de Strecker, mas também pela formação de caramelo que como

aditivo é empregado para corrigir a cor da cerveja, bem como desenvolver odores e sabores agradáveis. Essas reações de escurecimento consomem os açúcares redutores e aminoácidos prejudicando a fermentação. Há ainda o escurecimento causado pela oxidação dos taninos do lúpulo, considerado de menor importância no aumento da cor (VARNAM & SUTHERLAND 1997).

A extração das humulonas (alfa-ácidos) e sua isomerização durante a fervura é um processo pouco eficaz e dependente do binômio tempo / temperatura. Para se obter a máxima utilização das humulonas, são necessários aproximadamente 2 horas de fervura. A utilização² dos alfa-ácidos do lúpulo variam de 30 – 75% e diminui à medida que aumenta o valor do extrato. Assim, mostos concentrados têm baixo aproveitamento na extração, ou seja, grande parte (51%) de iso-alfa-ácidos acaba no *trub* quente após a fervura (IRWIN, MURRAY & THOMPSON, 1984).

Quanto à temperatura, MALOWICKI & SHELLHAMMER (2005), comentam que para uma fervura à 100°C, em pH de 5,2, 77% dos alfa-ácidos são isomerizados em 120min. Maiores temperaturas como de 130°C, por exemplo, isomerizam 100% de alfa-ácidos em 30 min. Os mesmos autores citam que fervuras por tempo prolongado, aumentam as perdas de iso-alfa ácidos e portanto sua degradação.

O exato mecanismo de ligação dos polifenóis com os polipeptídeos, ainda é incerto. Duas teorias são aceitas: a primeira propõe que os complexos polifenol/proteína formados, precipitam-se em função do tamanho elevado destas partículas; a segunda leva em conta uma pré-polimerização desse grupo fenólico para então gerar estes complexos com proteína e perder solubilidade (LEIPER et al., 2005).

Especialmente a prolina proveniente da cevada com os polifenóis oriundos também da e do lúpulo interagem durante a fervura. Essa interação está

² O valor de utilização se dá pela quantidade de iso-alfa na bebida pelo total de alfa-ácidos contidos no lúpulo, multiplicado por 100.

diretamente relacionada às quantidades de cada um no mosto. Portanto, diminuindo-se o nível de um ou de ambos, diminui-se a ocorrência dessas interações e conseqüentemente menor incidência de turbidez no produto final.

Em média as cervejas contêm aproximadamente 100-300 mg/L de polifenóis totais (LEIPER et al., 2005).

Polifenóis incluem todas as moléculas que contêm dois ou mais anéis de fenol. Do lúpulo derivam os flavonóis (quercetinas) em forma de glicosídeos (BRIGGS et al., 2004; BAMFORTH, 2006). Outros flavonóides e derivados encontrados estão as catequinas, epicatequinas, galocatequinas e epilogalocatequinas (LEIPER et al., 2005)

Os taninos do malte e do lúpulo são substâncias fenólicas. São classificados em dois grupos: taninos hidrolisáveis e condensados. Os taninos condensados são também chamados de proantocianidinas (SIMÕES et al., 2001). As proantocianidinas são polimerizações de catequinas e epicatequinas que em meio reacional ácido e em presença de oxigênio produzem pigmentos avermelhados (BAMFORTH, 2006)

Durante a fervura, há perdas de polifenóis, porém a remoção total de polifenóis não é totalmente desejável, já que alguns deles têm ação benéfica na cerveja como no sabor e como antioxidante – preservação, como também impacto positivo na estabilidade do sabor (SIEBERT & LYNN, 1997).

O uso de adjunto na substituição parcial do malte e adição posterior de estabilizantes como PVPP (polivinilpolirridona), minimizam essas interações e favorecem ao aumento de vida-de-prateleira desses produtos.

Necessidade de novos estudos para se obter ou otimizar os processos de fervura como: (i) promover alta intensidade de fervura com mínimo gasto de energia; (ii) aumentar a coagulação de frações proteicas e a (iii) isomerização do lúpulo e seus produtos (MICHEL & VOLLHALS, 2003).

3.5.3. Clarificação e remoção do *trub*

A clarificação do mosto baseia-se na sedimentação e filtração. Cervejas feitas com mostos mais claros demonstram excelente estabilidade e, portanto uma vida de prateleira prolongada (FIX, 1993). O processo não é suficiente para se eliminar os complexos polifenol/proteína responsáveis pela turbidez no frio

Tecnicamente, o *trub* é definido como um precipitado insolúvel resultado da coagulação de proteínas e simples nitrogênios constituintes que interagem com os carboidratos e polifenóis.

Nos cinco primeiros minutos de fervura, formam-se 60% do total de *trub*. Suas partículas variam de 30 a 80 microns. Com uma a duas horas de fervura, é o suficiente para que 95% do *trub* quente formado possa ser removido (KÜHBECK et al., 2006).

A formação do *trub* quente depende de vários fatores: (i) da cevada (local da colheita, fatores sazonais e influência genética e o tipo de proteína existente); (ii) das altas temperaturas na secagem do malte (produção de malte escuro), que resulta em poucas moléculas de peso molecular alto no mosto e portanto menos *trub*; (iii) da intensidade da mosturação que favorece a maior formação de *trub*; (iv) do tipo de cerveja (cervejas feitas de puro malte) e (v) do tipo de processo (*high gravity*) que produzem mais *trub*.

A não coagulação acarreta em cerveja de má qualidade, interferindo negativamente na fermentação, dificultando a captação do substrato pela levedura (bloqueio da membrana). Somente uma proporção do excesso de proteína precipita (*trub* quente), coagula na fervura, ficando parte dela no *trub* frio sem precipitar e formando complexos com polifenóis restantes que então precipitarão antes ou durante fermentação contribuindo para o aumento da turbidez.

Já o *trub* frio consiste de carboidratos de alto peso molecular (20-30% de beta-glucanos) e de produtos de quebra de prolamina e globulina solúveis no

mosto quente e insolúveis no mosto frio. Aproximadamente 15-25% de toda essa proteína, se liga com polifenóis, formando complexos de proteína-polifenóis a baixas temperaturas (especialmente abaixo de 76°C).

O peso em média do *trub* frio é de 15-30g/hL, esse valor depende de vários fatores como modificação do malte, programa de mosturação, temperatura do mosto e a presença de lúpulo ou adjuntos.

Programas intensos de mosturação como dupla, tripla decocção, degrada a proteína mais extensivamente, produzindo menos *trub* frio do que pelo método de infusão. O uso de adjuntos também diminui o *trub* frio.

TABELA 4 - Composição do *trub* quente.

	Valores na base úmida (%)
proteínas	40-70
substancias amargas	7-32
substancias orgânicas (polifenóis)	20-30
sais	5

FONTE: KUHBECK et al., 2006

A remoção do *trub* quente antes da fermentação é uma etapa critica, pois a presença das partículas do *trub* no mosto levam o risco de aderirem às células das leveduras e assim impedir o transporte de substâncias o que acarreta problemas de retenção, estabilidade de sabor ruim e sabor áspero do lúpulo.

Já a remoção do *trub* frio é uma tarefa bem mais difícil do que o *trub* quente, pois sua precipitação é reversível com a temperatura.

3.5.3.1. Métodos de remoção

Há muita controvérsia neste assunto, mas BARCHET (1994) acredita que removendo parte do *trub* frio e *trub* quente, acrescenta-se benefícios à cerveja acabada. Em geral, cervejeiros removem o *trub* antes da fermentação.

3.5.3.1.1. *Trub* quente

Os métodos utilizados para separação do *trub* são: (1) **hop backs** – é o primeiro método existente para remoção do *trub*. Utilizado em lugares em que faz a utilização dos cones inteiros do lúpulo. Consiste em uma camada de lúpulo que funciona como um leito filtrante que quando removido, ambos, lúpulo e complexo protéicos são removidos ao mesmo tempo; (2) **coolship** – é um método bem efetivo para remoção. O mosto permanece de uma hora a três horas resfriando até cair a temperatura entre 60-77°C. Em alguns casos o mosto permanece 12 h para precipitação completa do *trub* frio também. No entanto, tem algumas desvantagens: (a) geometria do coolship, onde inevitavelmente há muitas perdas do mosto; (b) o mosto fica em temperatura vulnerável para haver alta multiplicação de microrganismos; (c) o mosto em contato com ar, sofre oxidação e conseqüentemente escurecimento e (d) há um acréscimo de 20% de substâncias amargas na bebida final. (3) **whirlpool tanks (WT)** – aplicado em cervejarias em que se usa lúpulo nas formas de pellets, em pó ou extrato. O mosto normalmente entra no tanque tangencialmente com uma velocidade entre 13 e 50 ft/s. Em geral a eficácia do *whirlpools* diminui quando o valor do extrato é alto, isto porque a diferença relativa da densidade das partículas do *trub* em relação ao mosto diminui. É o método mais aplicado nas cervejarias.

Métodos de WT e *hop back* têm efetiva capacidade de separação, sendo também de menor custo.

3.5.3.1.2. *Trub* frio

É certo que removendo todo o *trub* frio, não se traz tantos benefícios à bebida final. Com a remoção, é observado fermentação lenta. Outros efeitos da completa remoção do *trub* frio: (i) altos níveis de CO₂ dissolvidos inibindo a fermentação; (ii) ausência de pontos de nucleação durante a fermentação resultando numa supersaturação de CO₂ no mosto (BARCHET, 1994).

Neste *trub* há lipídeos e zinco que contribuem para o crescimento e atividade da levedura e, portanto contribuem para uma fermentação mais rápida (SCHISLER, RUOCCO & MABEE, 1982; KÜHBECK et al., 2006).

Remoção parcial do *trub* frio por flotação, traz benefícios à estabilidade da bebida já envasada. Por flotação, remove-se proteínas, polifenóis, carboidratos e metais pesados como íons de cobre e ferro que são catalisadores reações de oxidação.

Custos extras em equipamentos e de laboratórios e o aumento do risco de contaminação são argumentos válidos para a não remoção do *trub* frio.

Para remoção do *trub* frio têm-se métodos como: (1) **tanque de precipitação** - método mais simples e usado pela maioria das microcervejarias, pois nele pode-se ser usado tanto para remoção do *trub* quente, quanto o *trub* frio; (2) **flotação** – método que vem se tornando muito comum para remoção do *trub* frio. Neste método, resfria-se o mosto e o satura com ar estéril. As bolhas de ar trazem o *trub* frio para o topo do tanque. Depois de 2-3 horas forma-se uma camada compacta no topo que é removida. Mais de 50 % do total de *trub* pode ser removido. O método pode ser aplicado se o mosto estiver inoculado ou não.

Outros métodos para remoção de *trub* quente e frio incluem a centrifugação e uso de terra diatomácea. A centrifugação pode ser usada por ambos. No entanto pela maior viscosidade do mosto frio, a velocidade deve ser ajustada. Aproximadamente 50-60% do total do *trub* frio pode ser removido utilizando este método.

A vantagem do uso é que além da remoção do *trub*, pequenas partículas também são removidas junto. É um método caro para se obter e manter e necessita um consumo considerável de energia. Em compensação, é de altíssimo rendimento, ou seja, há poucas perdas de extrato para o *trub*. O resultado é um mosto claro e de excelente qualidade (BRIGGS et al., 2004).

Já a filtração com terra diatomácea, em média consegue-se remover de 75 a 85% do total do *trub*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Toda etapa experimental foi realizada no Laboratório de Frutas, Hortaliças e Produtos Açucarados pertencente ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da FEA-UNICAMP.

Determinações físico-químicas da cerveja foram feitas na Cervejaria Premium em Frutal/ MG.

4.1. Matérias-primas utilizadas na produção do mosto e cerveja

- a) extrato de malte na forma de xarope - 100% malte, fornecido pela Liotécnica – Tecnologia em Alimentos. Ver características físico-químicas na TABELA 5;
- b) xarope de alta maltose, fornecido pela Cargill – *Food Ingredients Latin América*. Ver características físico-químicas na TABELA 6;
- c) lúpulo em “pellets” da variedade *Hallertau Perle* obtidos de cervejaria industrial próxima à cidade de Campinas (SP);
- d) água destilada;
- e) cultura de levedura cervejeira de baixa fermentação (*Saccharomyces carlsbergensis*) obtida do laboratório de Apoio/Instrumentação do DTA/FEA.

TABELA 5 - Características do extrato concentrado de malte.

Propriedades	
proteínas (%)	6,0
lipídeos (%)	0,2
cor (EBC) – 10% solução	20
pH	5-6
total de sólidos (%)	78
maltose ^a	35
sódio (mg)	32
cálcio (mg)	16
ferro (mg)	0,68
perfil de carboidratos (% base seca)	
dextrose	10
maltose	48
maltotriose	12
dextrinas	20

^a açúcares redutores como maltose

TABELA 6 - Características do xarope de alta maltose.

Propriedades	
DE ^a (%)	60 – 64
Sólidos Totais (%)	78 – 81
Proteína (%)	máx. 0,09
Cinzas (%)	máx. 0,25
pH (1:1)	4,8 – 5,2
SO 2 (ppm)	máx. 80 máx. 100 máx. 10;
Perfil de Açúcares (Base seca %)	máx.37,0
Dextrose	máx.33,0
Maltose	máx.13,0
Maltotriose	máx.20,0

^a dextrose equivalente

4.2. Métodos

4.2.1. Planejamento Experimental

Realizou-se um planejamento fatorial completo (Delineamento Composto Central Rotacional – DCCR) com 3 variáveis independentes o que forneceu 8 ensaios com 6 pontos axiais e 4 pontos centrais, totalizando 18 ensaios (TABELA 8).

Foram avaliadas as seguintes variáveis independentes: (i) concentração de extrato de malte:adjunto (%), (ii) quantidade de lúpulo (g/L) e (iii) tempo de fervura (min).

Os valores estipulados para o ponto central foram baseados pelos utilizados por uma cervejaria industrial. Os outros pontos, foram obtidos a partir da extrapolação do nível zero (ponto central).

TABELA 7 - Variáveis independentes para obtenção do mosto lupulado clarificado no planejamento fatorial completo 2^3 .

Variáveis	Níveis				
	- α	-1	0	+1	+ α
Extrato de malte:adjunto (%)	45/55	55/45	60/40	65/35	75/25
Lúpulo (g/L)	0,14	0,24	0,27	0,30	0,40
Tempo (min)	30	50	60	70	90

$\alpha=(2^n)^{1/4}$, onde n= número de variáveis, então $\alpha=(2^3)^{1/4} = 1,68$

TABELA 8 - Valores reais do planejamento utilizado.

Experimentos	Extrato de malte:adjunto (%)	Lúpulo (g/L)	Tempo (minutos)
1	55/45	0,24	50
2	65/35	0,24	50
3	55/45	0,30	50
4	65/35	0,30	50
5	55/45	0,24	70
6	65/35	0,24	70
7	55/45	0,30	70
8	65/35	0,30	70
9	45/55	0,27	60
10	75/25	0,27	60
11	60/40	0,14	60
12	60/40	0,40	60
13	60/40	0,27	30
14	60/40	0,27	90
15 (PC)	60/40	0,27	60
16 (PC)	60/40	0,27	60
17 (PC)	60/40	0,27	60
18 (PC)	60/40	0,27	60

Para análise do planejamento e plotagem de superfícies de resposta, foi utilizado o programa computacional STATISTICA 5.0 (Experimental Design; Central Composite Design).

4.2.2. Produção do mosto e cerveja

Os mostos fabricados para a produção das cervejas foram elaborados conforme o planejamento descrito nas TABELAS 7 e 8. Ver também FIGURAS 7 e 8.

Em todos os experimentos, o extrato de malte foi adicionado ao adjunto açucarado e diluídos com água destilada até concentração final de 50ºBrix.

A lupulação foi realizada no início da fervura, em uma única vez. Simultaneamente, após a adição do lúpulo, iniciou-se a agitação e contagem do tempo.

Após a fervura e corrigida a quantidade de água evaporada através do balanço de massa, fez-se a clarificação no mosto concentrado removendo o *trub* pelo método de centrifugação (3.840G/20 minutos).

As massas obtidas de *trub* e de mosto concentrado (50ºBrix) foram pesadas separadamente e então calculado o rendimento do processo em cada um.

Com o mosto já clarificado, diluiu-se para 12ºBrix. Acondicionados 800mL de mosto em garrafas PET de 2L, e resfriados à 10ºC, fez-se aeração através de agitação.

Inoculada a levedura cervejeira (contagem de $24 \cdot 10^6$ células viáveis/ mL de mosto), diariamente, fez-se a leitura do Brix em cada garrafa. A fermentação transcorreu por 7 dias, sob temperatura ambiente (20ºC) até um valor de Brix constante. Em seguida, para a maturação, foram engarrafadas em garrafas de vidro âmbar e armazenadas em câmara fria. Após 14 dias de maturação à 8ºC, permaneceram por mais 20 dias à espera das determinações físico-químicas.

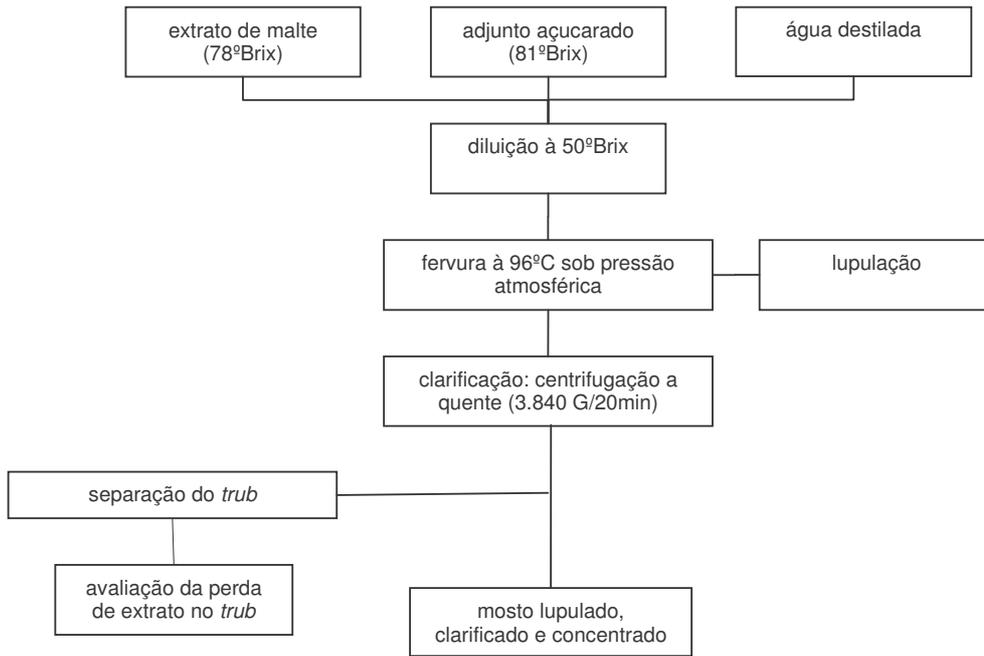


FIGURA 7 - Fluxograma da 1ª etapa: produção do mosto.

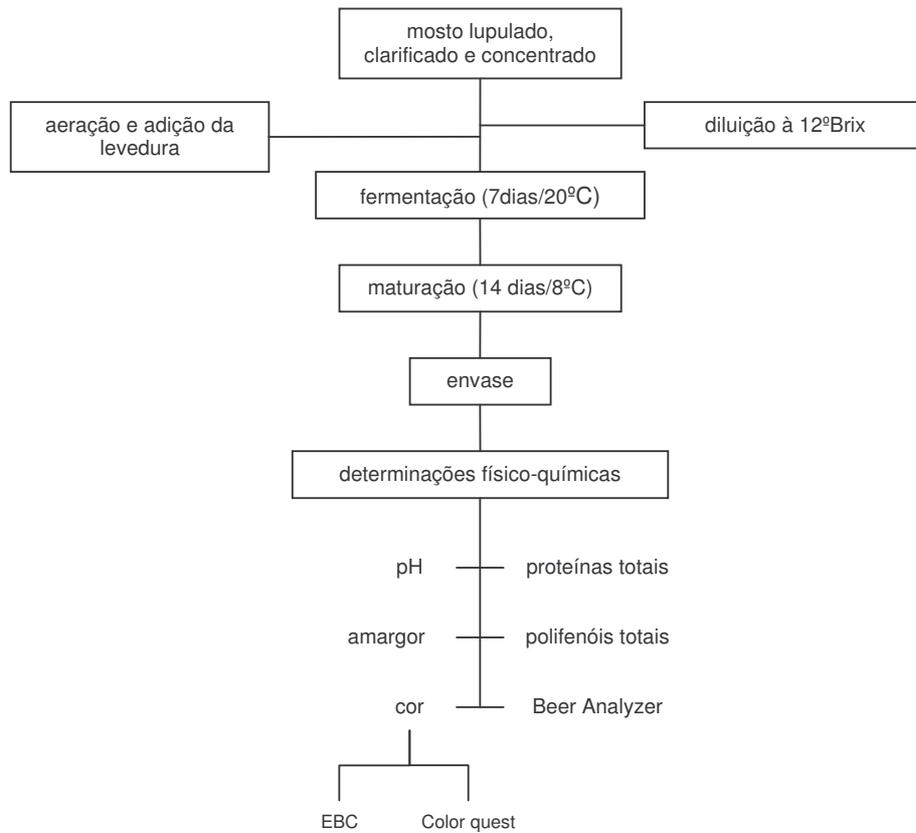


FIGURA 8 - Fluxograma da 2ª etapa: produção da cerveja.

4.2.3. Determinações físico-químicas dos mostos

4.2.3.1. pH

Durante o processo de fervura do mosto, o pH influencia a coagulação protéica, a solubilização e a isomerização dos componentes do lúpulo e o desenvolvimento da cor.

A medição foi realizada através da imersão do eletrodo do pHmetro na amostra; leitura e obtenção do resultado com duas casas decimais. Amostra resfriada à 20°C e homogeneizada recolhida ao final da fervura. AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), 1990.

4.2.3.2. extrato primitivo

Valor de sólidos no mosto antes da fermentação. Realizado pelo método refratométrico, segundo metodologia estabelecida pela EBC (*European Brewery Convention*). Respostas obtidas em °Plato.

4.2.3.3. extrato aparente

Valor de sólidos durante o processo de fermentação e no produto acabado. Realizado, com uso de refratômetro, segundo metodologia estabelecida pela EBC (*European Brewery Convention*).

4.2.4. Determinações físico-químicas das cervejas

4.2.4.1. pH

No produto acabado pode-se dizer que quanto maior o pH, maior a sua estabilidade organoléptica. Em contrapartida, quanto menor o pH, maior estabilidade física e microbiológica e também melhor espuma da cerveja.

Realizado em amostras descarbonatadas à 20°C, através da imersão do eletrodo do pHmetro; leitura e obtenção do resultado com duas casas decimais. AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), 1990.

4.2.4.2. cor

A coloração é determinada principalmente por melanoidinas presentes no malte e nos adjuntos utilizados. Entretanto durante a ebulição do mosto, ocorre aumento de coloração devido à caramelização dos açúcares, à formação de melanoidinas e à oxidação dos taninos.

A escala de cores foi criada por Bishop, composta por diferentes proporções de amarelo e vermelho, de tal modo que os números da escala guardam proporcionalidades entre si. Essa escala, posteriormente foi adotada pela EBC (*European Brewery Convention*).

Foram realizados neste trabalho, dois diferentes métodos espectrofotométricos para determinação da cor:

- Método EBC (*European Brewery Convention*), 1995: em cubeta de 10mm, utilizando como branco, água destilada.

$$\text{Cor (EBC)} = \text{Abs } 430\text{nm} \cdot 25$$

- Sistema colorimétrico CIELAB:

Com o Color quest previamente calibrado para leituras por transmitância total, utilizando-se anteparo branco C6299 de 3/96, iluminante D65, com ângulo de observação de 10° e cubeta de quartzo com caminho óptico de 10mm;

Em ambos, as amostras devem estar isentas de turvação. É feito um tratamento prévio com 0,1% (m/v) de terra diatomácea e em seguida filtração em papel.

4.2.4.3. amargor

O amargor da cerveja, assim como no mosto, é conferido principalmente pelas iso-humulonas provenientes do processo de isomerização do lúpulo durante a fervura do mosto. É um dos principais fatores de diferenciação entre as cervejas. Diferentes tipos de cerveja apresentam um conteúdo de amargor bem distinto.

Determinado pelo método EBC (*European Brewery Convention*), 1995, e obtenção da resposta em EBU (*European Bitterness Units*).

O método consiste na extração de substâncias amargas através do iso-octano em meio ácido, seguida da medição da absorbância em cubeta de 10mm, utilizando como branco, água destilada.

$$\text{Amargor (EBU)} = \text{Abs } 275\text{nm} \times 50$$

4.2.4.4. proteínas totais

A importância da determinação das substâncias nitrogenadas é muito grande, pois está relacionada a fatores que influenciam na qualidade da cerveja - nutrição da levedura, sabor, estabilidade de espuma, turvação entre outros.

Quase toda proteína da cerveja é derivada da cevada. Outra parte provém do lúpulo e das células de leveduras autolizadas.

O método baseia-se na determinação de nitrogênio total através da digestão do material nitrogenado a íon amônio e posterior determinação do íon amônio, no digerido, após destilação com uma base. Realizado, segundo método de Kjeldahl, AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), 1990. Tem-se:

$$\% N = \frac{\text{mL HCl} \times \text{NR HCl} \times 0,014 \times 100}{V}$$

Onde:

NR: normalidade real do HCl

V: volume da amostra (mL)

0,014: equivalente grama N₂

100: conversão para porcentagem

$$\% \text{ proteína} = \% N \times 6,25 \text{ (fator de correção para cerveja)}$$

4.2.4.5. polifenóis

A cerveja possui uma mistura complexa de compostos fenólicos que são na maioria derivados do malte e o restante do lúpulo.

Sua presença tem influência direta na estabilidade coloidal, como também na estabilidade físico-química do produto acabado.

O método se baseia na reação dos polifenóis com íon ferro III em meio alcalino formando complexo na cor vermelha. A intensidade da cor é proporcional à quantidade dos mesmos presentes. Realizado conforme metodologia estabelecida pela ASBC (*American Society of Brewing Chemists*), 1978.

$$\text{Polifenóis, mg/L} = \text{Abs } 600\text{nm} \times 820$$

Por último, através do *Beer Analyzer*, determinou-se os extratos original e aparente (°Plato); fermentabilidade real e aparente (%); teor alcoólico (%v/v), densidade relativa (g/cm³) .

4.2.5. Determinação físico-químicas do lúpulo

4.2.5.1. teor de alfa ácidos

O alfa-ácido é o elemento de maior importância na composição do lúpulo, pois é ele, isomerizado, que dará origem ao iso-alfa ácido de importância no amargor da cerveja.

O método consiste na extração dos alfa ácidos com solvente orgânico, seguida de duas diferentes diluições em metanol alcalino. A absorbância é medida em três faixas. Realizado, segundo método da AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), 1990, no qual:

$$\% \text{alfa ácidos} = d \times (-51,56 \text{Abs } 355\text{nm} + 73,79 \text{Abs } 325\text{nm} - 19,07 \text{Abs } 275\text{nm})$$

Onde:

d : fator de diluição = 0,25

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para extrato original, pH e rendimento do processo de centrifugação para remoção do *trub* quente dos mostos concentrados, estão apresentados na TABELA 10.

Os valores dos extratos apresentaram-se próximos a 50°Brix. Isso demonstra ótimo controle deste parâmetro durante a produção do concentrado.

Em relação ao pH, variaram de 5,21 a 5,49. Valores estes que estão em concordância com a faixa de 5,0 a 6,0 citada por HARDWICK (1995) e PAIK, LOW & INGLEDEW (1991).

Na centrifugação obteve-se um bom rendimento do processo, ou seja, dos 280g iniciais de mosto concentrado, conseguiu-se em média 250g de sobrenadante (90%).

Nas cervejas produzidas, o valor do extrato original esteve em média 10 % abaixo de 12°Brix (valor referência). Mesmo assim, isso não prejudicou o processo, apresentando um grau de fermentabilidade aparente acima do valor de 68,79% encontrado por SLEIMAN (2002) com o mesmo tipo de processo. Essa diferença pode ser explicada pela origem da matéria-prima, como também da proporção malte e adjunto utilizada pelo o autor.

Quanto ao tempo de fermentação, este foi longo, em média de 168 h nos experimentos. Tempo semelhante ao relatado por PAIK, LOW & INGLEDEW (1991) de 45 a 173h para mostos também produzidos com extrato de malte na forma de xarope.

Para cervejas *Pilsen* 100% malte, segundo BRIGGS, et al. (2004), têm-se os seguintes valores como referência: (i) extrato aparente varia de 1,75 - 3,60°P; (ii) extrato original de 10,87 – 13,06°P; (iii) fermentabilidade real de 56 – 70,2%;

(iv) pH de 3,74 – 4,63; (v) cor de 2,9 – 8,8 e (vi) amargor de 3,1 – 51,2 e, de acordo com HARDWICK (1995), 2,5-5% (v/v) de álcool.

Os valores de amargor para cervejas *Pilsen*, segundo a *European Brewery Convention*, é de no máximo 27 EBU; valor acima dos padrões de consumo brasileiro (10-12 EBU). Neste caso, os valores encontrados ficaram abaixo ao esperado: cerca de 36% menos em relação aos valores obtidos nos pontos centrais do experimento.

Quantidades de polifenóis ficaram dentro dos valores citados por LEIPER et al. (2005) de 100-300 mg/L. O mesmo aconteceu para os de proteína bruta que permaneceram dentro das faixas de referência que segundo HARDWICK (1994) e BRIGGS (2004), variam de 0,26-0,45% e 0,11-0,63%, respectivamente.

TABELA 9 - Características físico-químicas das cervejas produzidas. (Ver com mais detalhes TABELA 10)

Determinações	Variação	Valores de referência
Extrato (°P)		
original	10,70 – 11,51	10,87 – 13,06*
aparente	2,0 – 2,41	1,75 – 3,6*
Densidade (g/cm ³)	1,00595 – 1,00759	1,00682 – 1,01411*
Fermentabilidade (%)		
real	65,12 – 67,85	56,0 – 70,2*
aparente	78,72 – 82,16	-
Cor (EBC)	6,25 – 18,22	-
Álcool (% v/v)	4,6 – 4,95	2,5-5,0**
pH	3,93 – 4,20	3,74 – 4,63*
Amargor (EBU)	4,10 – 10,25	3,1 – 51,2*
Polifenóis (mg/L)	108 – 158,75	100 – 300***
Proteína bruta (%)	0,27 – 0,47	0,11 – 0,63*

* Briggs et al. (2004)

** Hardwick (1994)

*** Leiper et al. (2005)

Obs. Os resultados para cor, amargor, polifenóis e proteína na cerveja, além de servirem como parâmetro de estudo e caracterização do produto obtido, foram também considerados como resposta dependente para o planejamento experimental aplicado.

TABELA 10 - Resultados obtidos para mosto e cerveja.

Experimentos	MOSTO					CERVEJA						
	Sobrenadante	precipitado	rendimento	Extrato	pH	Extrato	Álcool	Densidade	Fermentabilidade		pH	
	(g)	(g)	%	Original °Plato	Unidade de pH	Original °Plato	Aparente °Plato	%v/v	g/cm ³	real %	aparente %	Unidade de pH
1	255,9	24,1	91,4	50,8	5,37	11,27	2,13	4,85	1,00645	67,03	81,14	3,96
2	255,0	25,0	91,0	50,4	5,36	11,37	2,25	4,84	1,00694	66,31	80,21	4,02
3	252,5	27,5	90,2	49,7	5,49	11,37	2,03	4,95	1,00607	67,85	82,16	4,00
4	252,1	27,9	90,0	50,0	5,49	11,46	2,21	4,91	1,00678	66,71	80,71	4,06
5	250,9	29,0	89,6	50,3	5,33	11,08	2,06	4,78	1,00621	67,20	81,38	3,99
6	252,5	27,6	90,2	49,7	5,30	10,70	2,00	4,60	1,00595	67,12	81,33	4,03
7	250,1	28,9	89,3	47,6	5,32	11,46	2,31	4,86	1,00717	66,03	79,84	4,01
8	250,3	29,7	88,1	50,7	5,40	11,48	2,28	4,89	1,00707	66,26	80,13	4,06
9	252,4	27,6	90,1	50,4	5,33	11,39	2,12	4,92	1,00644	67,22	81,36	3,93
10	256,7	23,4	91,7	50,0	5,33	11,37	2,19	4,87	1,00672	66,69	80,70	4,20
11	249,3	30,8	89,0	50,1	5,31	11,30	2,21	4,83	1,00678	66,49	80,45	4,02
12	*	*	*	50,4	5,33	11,51	2,33	4,88	1,00724	65,96	79,76	4,08
13	256,7	23,3	91,7	50,1	5,46	11,36	2,17	4,88	1,00664	66,84	80,88	4,10
14	248,8	30,4	88,9	50,8	5,21	11,40	2,22	4,88	1,00683	66,56	80,52	4,19
15 (PC)	249,7	30,4	89,2	48,3	5,27	11,30	2,13	4,87	1,00646	67,06	81,16	4,00
16 (PC)	*	*	*	50,1	5,23	11,46	2,18	4,93	1,00596	66,93	80,98	3,98
17 (PC)	256,9	23,1	91,8	48,1	5,36	11,41	2,16	4,91	1,00659	66,99	81,07	4,04
18 (PC)	250,2	29,8	89,4	50,1	5,35	11,35	2,41	4,75	1,00759	65,12	78,72	3,99

* valores não obtidos

TABELA 11 - Resultados do DCCR para as respostas cor (CIELAB e EBC), amargor, polifenóis e proteínas totais.

Experimentos	Extrato de malte:adjunto (%)	Lúpulo (g/L)	Tempo (minutos)	Cor			EBC	Amargor EBU	Polifenóis mg/L	Prot.Totais % de prot. Totais
				L*	a*	b*				
1	55/45	0,24	50	92,22	-1,01	27,61	8,62	6,20	114,22	0,2937
2	65/35	0,24	50	89,98	-0,05	36,09	12,20	5,75	154,32	0,3463
3	55/45	0,30	50	92,00	-0,95	28,48	9,25	6,40	124,64	0,3001
4	65/35	0,30	50	90,15	-0,21	35,56	12,47	7,00	134,72	0,2977
5	55/45	0,24	70	90,73	-0,39	33,14	11,15	7,50	121,44	0,3032
6	65/35	0,24	70	86,60	2,23	47,08	12,68	6,45	141,28	0,3876
7	55/45	0,30	70	90,19	-0,25	35,40	13,17	8,40	126,52	0,3458
8	65/35	0,30	70	89,11	0,34	39,36	16,17	8,50	157,68	0,3887
9	45/55	0,27	60	92,87	-1,28	25,64	10,55	5,80	108,48	0,2719
10	75/25	0,27	60	87,07	1,74	45,63	18,22	6,00	158,75	0,4756
11	60/40	0,14	60	91,89	-0,95	28,87	10,82	4,10	126,03	0,3531
12	60/40	0,40	60	91,04	-0,67	32,27	12,47	10,25	140,22	0,3536
13	60/40	0,27	30	93,86	-1,40	21,06	6,25	6,30	115,54	0,3142
14	60/40	0,27	90	87,19	1,63	44,95	18,05	8,65	143,09	0,4098
15 (PC)	60/40	0,27	60	89,75	-0,01	37,10	14,10	7,45	130,05	0,3461
16 (PC)	60/40	0,27	60	91,40	-0,78	30,87	12,10	7,10	138,66	0,3076
17 (PC)	60/40	0,27	60	90,98	-0,64	32,81	11,30	6,65	125,87	0,3278
18 (PC)	60/40	0,27	60	91,25	-0,71	31,56	12,90	6,00	125,05	0,3554

5.1. Cor

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 1997), cervejas com menos de 20 EBC (*European Brewery Convention*) são classificadas como cervejas claras. Sendo assim, todos os experimentos realizados obtiveram cervejas consideradas claras em sua cor, variando de 6,25 a 18,22 EBC. (Ver TABELA 11, na qual está apresentado o delineamento com as condições realizadas e as respostas para cor EBC).

No processo cervejeiro, o escurecimento não enzimático ocorre na etapa de secagem do malte e tem continuidade durante a fervura do mosto (VANDERHAEGEN et al., 2006).

Os produtos da reação de Maillard entre o aminoácido prolina (aminoácido principal do malte) e o açúcar redutor (maltose), são responsáveis pelo escurecimento não enzimático durante a fervura. Portanto, o nível de prolina no mosto pode afetar a cor da cerveja (escurecimento). No entanto, a substituição parcial dos açúcares fermentescíveis do malte por xarope de alta maltose (XATM) traz diminuição desse escurecimento.

As variáveis malte:adjunto e tempo foram as que contribuíram significativamente ($p < 0,10$) para o aumento na intensidade da cor. Os outros fatores, dentro da faixa estudada, não afetaram na resposta.

O modelo de primeira ordem obtido das variáveis codificadas, considerando-se os coeficientes de regressão estatisticamente significativos a $p < 0,10$ (TABELA 12), para COR (EBC) é:

$$\text{COR (EBC)} = 12,35944 + 1,774153 M + 2,231492 T$$

Onde:

M = proporção malte:adjunto (%)

T = tempo (min)

TABELA 12 – Coeficientes de regressão para a resposta COR (EBC), considerando somente os termos a $p < 0,10$.

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro Puro	t(3)	p
Média	12,35944	0,28153	43,90095	< 0,0001
Malte : Adjunto (L)	1,774153	0,323211	5,489151	0,0118
Tempo (L)	2,231492	0,323211	6,904136	0,0062

TABELA 13 – ANOVA para COR (EBC), considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$.

Fonte de variação	SS	GL	QM	F _{cal}
regressão	110,9916	2	55,49582	19,06529
resíduo	43,66246	15	2,910831	
Total	154,6541	17		

$F_{2;15;0,10} = 2,70$; % variação explicada (R^2) = 71,76

Na TABELA 13 apresenta-se a ANOVA, considerando somente os termos estatisticamente significativos. O coeficiente de determinação para COR (EBC) foi igual a 71,76%, um valor razoável para este tipo de processo. O teste F foi significativo (F_{calc} é 7 vezes maior que F_{tab}), sendo assim, o modelo é adequado para descrever o resultado através da superfície de contorno.

Observa-se nas curvas de contorno (FIGURA 9), que maiores quantidades de XATM, ou seja, menores quantidades de malte em tempos abaixo de 60 min, produziram cervejas mais claras. No entanto, maiores tempos (> 80 min), forneceram cervejas bem mais escuras.

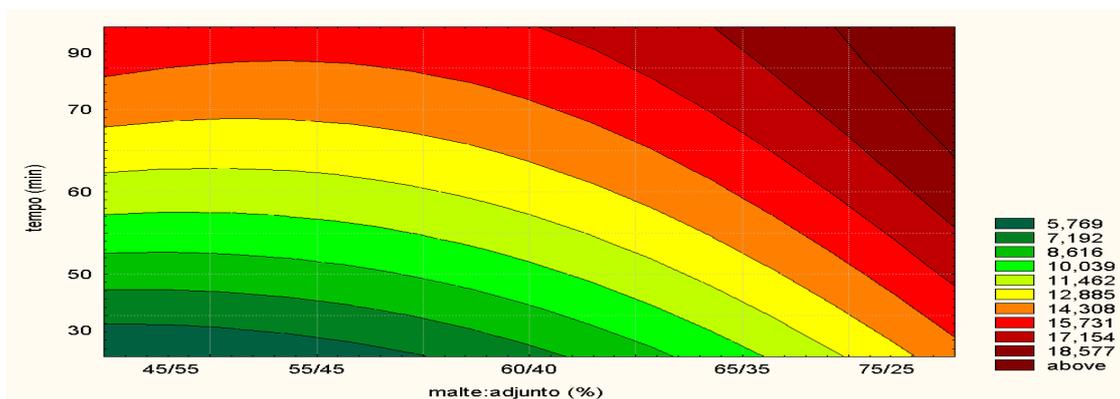


FIGURA 9 - Curva de contorno obtida para a resposta cor (EBC) em função do tempo e malte:adjunto.

Pelo sistema CIE $L^* a^* b^*$, tem-se informações sobre as cores que compõem as cervejas como também a sua luminosidade (Ver TABELA 11, na qual está apresentado o delineamento com as condições realizadas e as respostas para CIE $L^* a^* b^*$).

Maior luminosidade com menores teores de malte, é explicado pela maior proporção de adjunto (XATM) em relação ao malte. Isto contribui naturalmente para cervejas mais claras e brilhantes (VENTURINI FILHO, 2000).

Apesar disso, os valores de luminosidade encontrados ficaram um pouco abaixo (86,60 – 93,86) em relação a 96,08 da cerveja padrão comercial *Pilsen* estudada por HAJ-ISA (2000). Menores valores de luminosidade indicam um processo de clarificação adequado e conseqüentemente, menor turbidez no produto final.

As variáveis malte:adjunto e tempo, contribuíram significativamente ($p \leq 0,10$) para a diminuição da luminosidade. Outros fatores estudados, não interferiram na resposta.

O modelo de primeira ordem obtido das variáveis codificadas, considerando apenas os coeficientes de regressão estatisticamente significativos a $p < 0,10$ (TABELA 14), para $COR L^*$ é:

$$COR L^* = 90,46 - 1,39523 M - 1,38667 T$$

Onde:

M = proporção malte:adjunto (%)

T = tempo (min)

TABELA 14 – Coeficientes de regressão para a resposta $COR L^*$, considerando somente os termos a $p < 0,10$.

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro Puro	t(3)	p
Média	90,46	0,176871	511,4463	<0,0001
Malte : Adjunto (L)	-1,39523	0,203057	-6,87111	0,0063
Tempo (L)	-1,38667	0,203057	-6,82898	0,0064

TABELA 15 – ANOVA para $COR L^*$, considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$.

Fonte de variação	SS	GL	QM	F _{cal}
regressão	52,84535	2	26,42268	28,23971
resíduo	14,03485	15	0,935657	
Total	66,8802	17		

$F_{2;15;0,10} = 2,70$; % variação explicada (R^2) = 79,01

Analisando-se a TABELA 15, verifica-se que o F foi significativo (F_{calc} é 10 vezes maior que F_{tab}) e a porcentagem de variação explicada, de 79,01%. Dessa maneira, o modelo é adequado para descrever a resposta através da superfície de contorno.

Na FIGURA 10, visualiza-se que quanto maior o teor de malte (menor de adjunto) e maior o tempo de fervura, menor é a luminosidade. O aumento de malte, significa aumento de proteína no mosto e conseqüentemente, chances de maior turbidez na cerveja. Menor luminosidade em maiores tempos de fervura, é explicada pelo aumento de incorporação de oxigênio ao mosto (reações oxidativas) e pelas reações de escurecimento. Verifica-se que na faixa de 45/55 à 60/40, fervuras acima de 70 min, contribuem para uma decrescente diminuição do L^* .

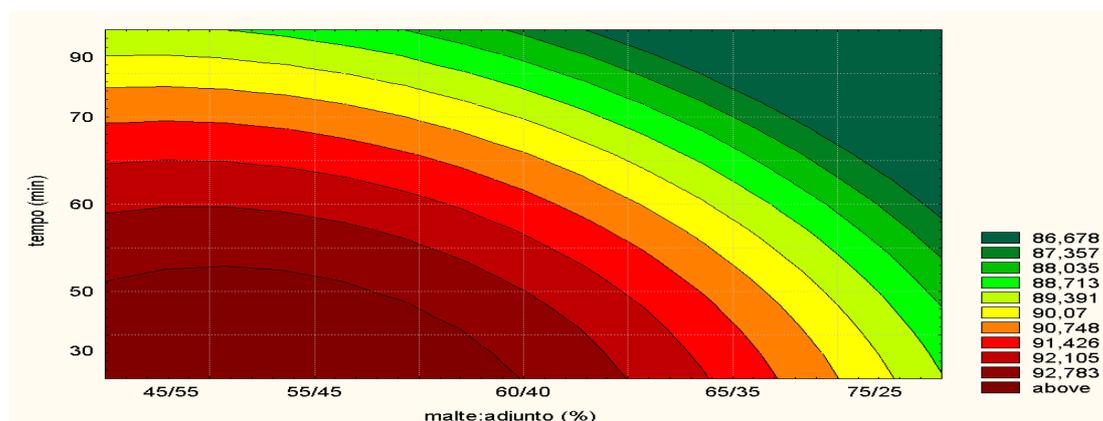


FIGURA 10 - Curva de contorno obtida para a resposta cor L^* em função do tempo e malte:adjunto.

Maiores tempos de fervura e maiores porcentagens de malte em relação ao adjunto, produziram cervejas mais avermelhadas (FIGURA 11). Isto devido à polimerização dos polifenóis presentes no malte e no lúpulo (BAMFORTH, 1999).

As variáveis malte:adjunto (linear e quadrático) e tempo (linear e quadrático), afetaram significativamente ($p < 0,10$) um pequeno aumento na tonalidade avermelhada.

O modelo de segunda ordem obtido das variáveis codificadas, considerando apenas os coeficientes de regressão estatisticamente significativos a $p < 0,10$ (TABELA 16), para COR a^* , é:

$$\text{COR } a^* = -0,62199 + 0,731429 M + 0,307212 M^2 + 0,67701 T + 0,266553 T^2$$

Onde:

M = proporção malte:adjunto (%)

T = tempo (min)

TABELA 16 – Coeficientes de regressão para a resposta COR a^* , considerando somente os termos a $p < 0,10$.

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro Puro	t(3)	p
Média	-0,62199	0,140809	-4,41726	0,0215
Malte : Adjunto (L)	0,731429	0,095964	7,621922	0,0046
Malte : Adjunto (Q)	0,307212	0,097502	3,15083	0,0512
Tempo (L)	0,677010	0,095964	7,054852	0,0058
Tempo (Q)	0,266553	0,097502	2,733826	

TABELA 17 – ANOVA para COR a^* , considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$.

Fonte de variação	SS	GL	QM	F _{cal}
regressão	15,43518	4	3,858795	14,90138
resíduo	3,366421	13	0,258955	
Total	18,8016	17		

$F_{4;13;0,10} = 2,43$; % variação explicada (R^2) = 82,09

Na TABELA 17, tem F_{calc} maior (6 vezes) que F_{tab} e um valor de R^2 (82,09%), que indica boa correlação dos valores preditos com os valores experimentais.

Assim, na superfície de contorno obtida (FIGURA 11), as cervejas com tonalidades mais avermelhadas apresentaram-se em regiões com maiores teores de malte. Maior tempo de fervura, indicou, aumento na intensidade do vermelho, ou seja, maior ocorrência de oxidação dos polifenóis no malte e do lúpulo e conseqüentemente, aumento na intensidade vermelha.

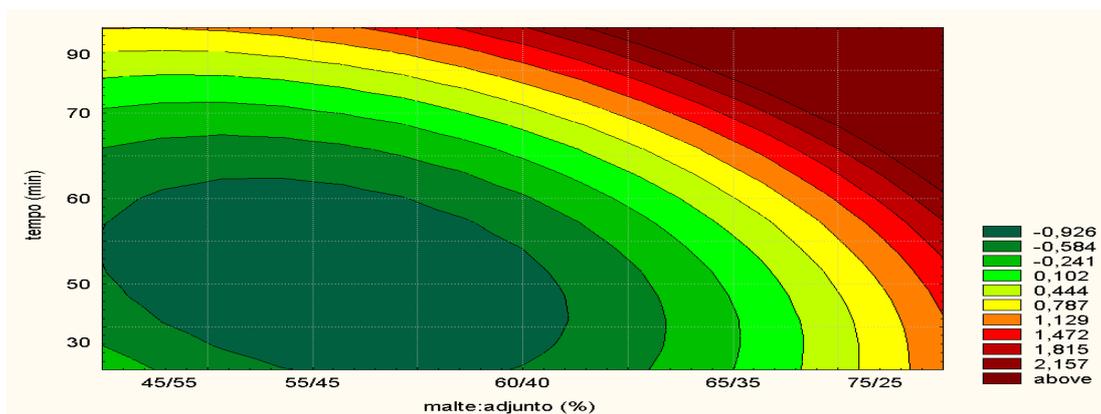


FIGURA 11. Curvas de contorno obtidas para a resposta cor a^* em função do tempo e malte:adjunto.

Por último, na avaliação para COR CIE $L^* a^* b^*$, a variável b^* , demonstra que as cervejas obtidas têm uma tonalidade amarelada, característica da *Pilsen*.

Novamente, as variáveis malte:adjunto e tempo foram que contribuíram significativamente ($p < 0,10$) para o aumento na intensidade dessa cor.

O modelo de primeira ordem obtido das variáveis codificadas, considerando apenas os coeficientes de regressão estatisticamente significativos a $p < 0,10$ (TABELA 18), para COR b^* , é:

$$\text{COR } b^* = 34,08222 + 4,911749 M + 4,936571 T$$

Onde:

M = proporção malte:adjunto (%)

T = tempo (min)

A ANOVA obtida (TABELA 19) demonstra que F_{calc} é 11 vezes maior que F_{tab} e, portanto, o modelo é válido. A variação explicada foi de 79,88%. Constatada a validade do modelo, é possível avaliar a superfície de contorno na FIGURA 12.

TABELA 18 – Coeficientes de regressão para a resposta COR b^* , considerando somente os termos a $p < 0,10$.

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro Puro	t(3)	p
Média	34,08222	0,65867	51,744	<0,0001
Malte : Adjunto (L)	4,911749	0,756186	6,495421	0,0074
Tempo (L)	4,936571	0,756186	6,528246	0,0073

TABELA 19 – ANOVA para COR b^* , considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$.

Fonte de variação	SS	GL	QM	F _{cal}
regressão	662,2893	2	331,1447	29,78137
resíduo	166,7878	15	11,11919	
Total	829,0771	17		

$F_{2;15;0,10} = 2,70$; % variação explicada (R^2) = 79,88

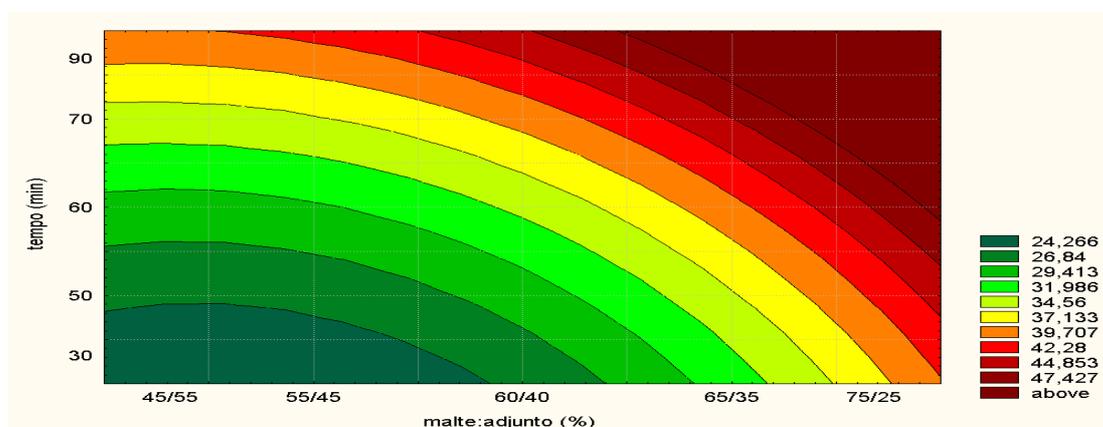


FIGURA 12 - Curva de contorno obtida para a resposta cor b^* em função do tempo e malte:adjunto.

Na FIGURA 12, vê-se que o aumento da intensidade do amarelo aumenta com o aumento da proporção de malte em relação ao adjunto como também em maiores tempos de fervura.

O CIE $L^* a^* b^*$, confirmou as respostas obtidas para cor (EBC), em que malte:adjunto e tempo exercem influência estatisticamente significativa ($p < 0,10$) contribuindo para o aumento da cor (escurecimento) nas variáveis dependentes L^* , a^* e b^* .

5.2. Amargor

Os valores de amargor encontrados para o tipo de cerveja em questão, ficaram abaixo do que era esperado (TABELA 09), entre 10-12 EBU nos pontos centrais, sendo obtido uma média de aproximadamente 7. Isto pode ser justificado por quatro razões: (i) degradação dos componentes ativos do lúpulo durante a estocagem; (ii) tempo e intensidade de fervura não adequado para extração dos compostos e isomerização; (iii) perdas de lúpulo nas paredes durante a fervura e no *trub* e/ou (iv) fervura com mostos concentrados (IRWIN, MURRAY & THOMPSON, 1984)

Diante disso, realizou-se determinação espectrofotométrica a fim de se avaliar quantitativamente o teor de alfa-ácido no lúpulo que teoricamente segundo HARDWICK (1995) para *Hallertau Perle* é 9%. O resultado foi um lúpulo com 7,5% de alfa-ácidos.

CANBAS, ERTEN & ÖSZAİN (2001) citam que independentemente da variedade, pellets de lúpulo, mesmo em baixas temperaturas (3°C) e ao abrigo da luz, sofrem deterioração, perdas de compostos ativos, principalmente de alfa-ácidos. Perdas maiores para a variedade *Perle*, neste estudo, chegaram a 17,5% do valor inicial.

Conforme MALOWICKI & SHELLHAMMER (2006), a reação de isomerização dos compostos do lúpulo é de primeira ordem, ou seja, conforme aumenta-se o tempo de exposição à fervura, maior é a solubilidade desses compostos, e nessa proporção, aumenta-se o número de isômeros e diminui-se proporcionalmente a quantidade de alfa-ácidos no mosto. Assim, na FIGURA 13 tem-se o tempo de fervura diretamente proporcional ao aumento do amargor.

Os mesmos autores comentam sobre as perdas dos compostos de amargor para o *trub* que podem variar de 30-38% e JACOBSEN & HAGE (1989) afirmam que, durante a fermentação, não há alterações nos níveis de iso-alfa ácidos, ficando as perdas restritas ao processo de fervura.

De acordo com o que foi realizado, observou-se que, para a resposta amargor, o lúpulo e o tempo foram estatisticamente significativos ($p < 0,10$). Compreende-se que para se obter mais isômeros do alfa-ácido, maior deve ser o tempo de fervura como já citado.

O modelo de primeira ordem obtido das variáveis codificadas, considerando apenas os coeficientes de regressão estatisticamente significativos a $p < 0,10$ (TABELA 20), para AMARGOR (EBU), é:

$$\text{AMARGOR (EBU)} = 6,916667 + 1,079533 L + 0,692122 T$$

Onde:

L = lúpulo (g/L)

T = tempo (min)

TABELA 20 – Coeficientes de regressão para a resposta AMARGOR (EBU), considerando somente os termos a $p < 0,10$.

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro Puro	t(3)	p
Média	6,916667	0,14751	46,88941	<0,0001
Lúpulo (L)	1,079533	0,169349	6,374601	0,0078
Tempo (L)	0,692122	0,169349	4,086955	0,0264

TABELA 21 – ANOVA para AMARGOR (EBU), considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$.

Fonte de variação	SS	GL	QM	F _{cal}
regressão	22,45767	2	11,22884	15,73793
resíduo	10,70233	15	0,713489	
total	33,16	17		

$F_{2;15;0,10} = 2,70$; % variação explicada (R^2) = 67,72

A ANOVA obtida (TABELA 21) demonstra que F_{calc} é 5,8 vezes maior que F_{tab} e, portanto, o modelo é válido. A variação explicada foi de 67,72%. O valor é considerado aceitável, considerando as condições do processo.

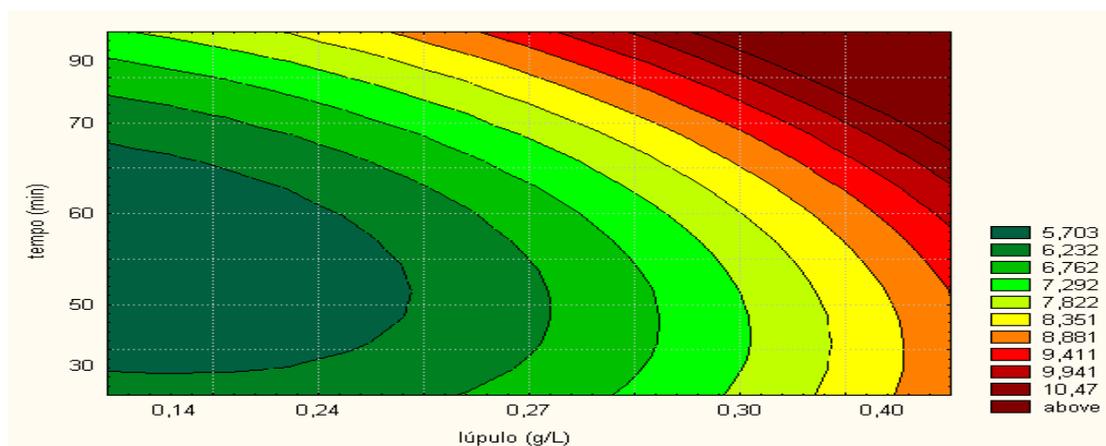


FIGURA 13. Curva de contorno obtida para a resposta amargor (EBU) em função do tempo e lúpulo

Fica claro na FIGURA 13, que para obter amargor final próximo ao padrão brasileiro (10-12EBU), utilizando 0,27 g/L, necessitaria de maior tempo de fervura, acima de 90 min.

5.3. Polifenóis

Os valores dos teores de polifenóis como já mencionados anteriormente, ficaram dentro dos valores citados por LEIPERT et al. (2006). Ver TABELA 9 e TABELA 11.

Durante a mosturação, fervura e resfriamento do mosto, parte dos polifenóis são destruídos (BAMFORTH, 1999) e outra parte permanece no produto final. No entanto, com o tempo de fervura, flavonoides como catequinas e epicatequinas derivadas do lúpulo e da epimerização das catequinas aumentam (BRIGGS, 1994). Este fato confirma a afirmação, pela interação significativa entre o lúpulo e o tempo no aumento de polifenóis totais (FIGURA 14).

Conforme BRIGGS et al. (2004), o malte contribui muito mais que o lúpulo para o teor de polifenóis: cerca de 70% a 80% provém do malte e outros 20 a 30% do lúpulo, quando a cerveja é feita exclusivamente com malte. Adicionalmente, o tempo e o lúpulo, também tiveram participação significativa ($p < 0,10$) para maiores valores de polifenóis.

O modelo de primeira ordem obtido das variáveis codificadas, considerando apenas os coeficientes de regressão estatisticamente significativos a $p < 0,10$ (TABELA 22), para POLIFENOL (mg/L), é:

$$\text{POLIFENOL (mg/L)} = 132,3206 + 13,5993 M + 2,648094 L + 4,785391T + 3,8325 L T$$

Onde:

M = malte:adjunto (%)

L = lúpulo (g/L)

T = tempo (min)

TABELA 22 – Coeficientes de regressão para a resposta POLIFENOL (mg/L), considerando somente os termos a $p < 0,10$.

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro Puro	t(3)	p
Média	132,3206	0,961118	137,6736	<0,0001
Malte : Adjunto (L)	13,5993	1,103412	12,32478	0,0011
Lúpulo (L)	2,648094	1,103412	2,399914	0,0958
Tempo (L)	4,785391	1,103412	4,336903	0,0226
Lúpulo (L) x Tempo (L)	3,8325	1,441677	2,658362	0,0764

TABELA 23 – ANOVA para POLIFENOL (mg/L), considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$.

Fonte de variação	SS	GL	QM	F _{cal}
regressão	3051,727	4	762,9318	17,44649
resíduo	568,4877	13	43,72982	
total	3620,215	17		

$F_{4;13;0,10} = 2,43$; % variação explicada (R^2) = 84,29

A ANOVA obtida (TABELA 23) demonstra que F_{calc} é 7 vezes maior que F_{tab} e, portanto, o modelo pode ser considerado válido. A variação explicada foi de 84,29% que demonstra uma boa adequação dos valores obtidos em relação ao modelo predito.

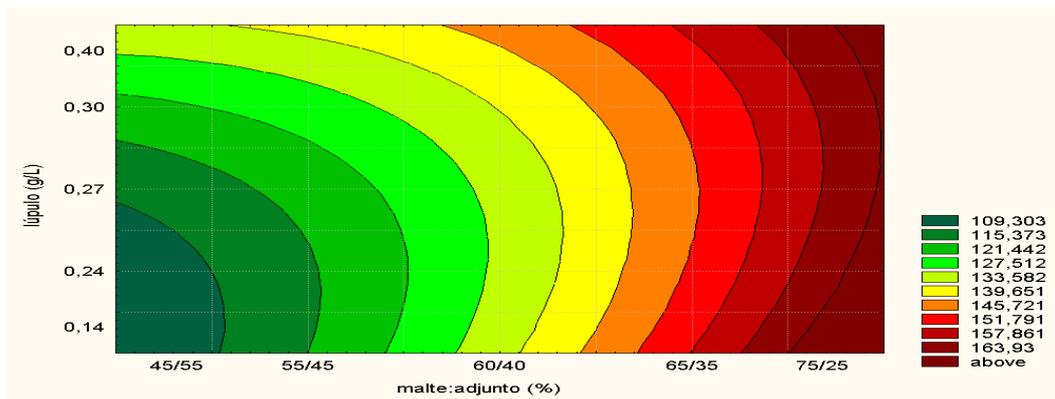
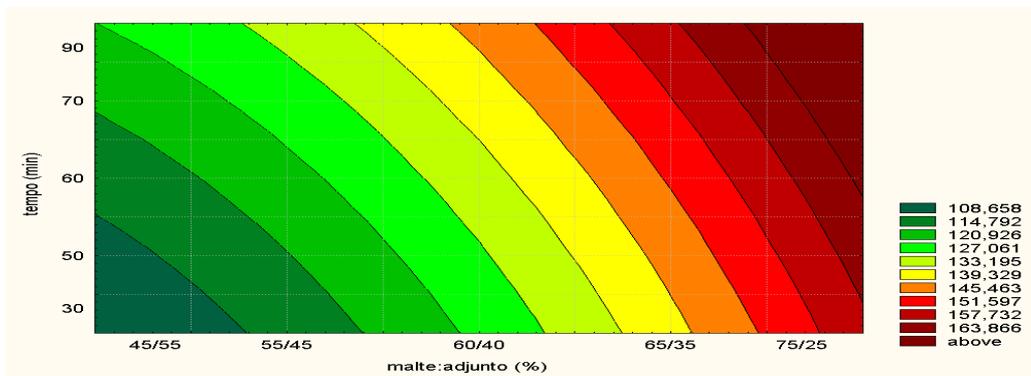
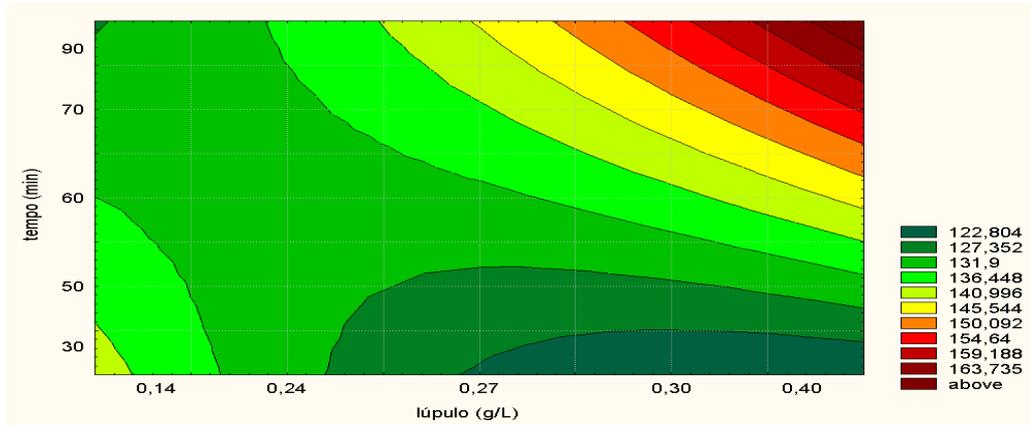


FIGURA 14 - Curvas de contorno obtidas para a resposta polifenol (mg/L) em função do tempo e lúpulo (a), do tempo e malte:adjunto (b) e do lúpulo e malte:adjunto (c).

5.4. Proteínas

O conteúdo protéico obtido está dentro do esperado (TABELA 9) conforme BRIGGS et al., (2004) e HARDWICK (1995). Ver TABELA 11 na qual está apresentado o delineamento com as condições realizadas e suas respectivas respostas.

A remoção de proteínas de alto peso molecular é um dos objetivos na fervura. O excesso de proteína, não eliminado nessa etapa, prejudica o processo de fermentação. Além disso, proteínas não eliminadas, reagem com polifenóis, causando turbidez e portanto diminuindo o tempo de vida-de-prateleira do produto. Em contrapartida, algumas proteínas são necessárias para uma melhor retenção de espuma e encorpamento da cerveja.

De acordo com o planejamento realizado, obteve-se respostas estatisticamente significativas ($p \leq 0,10$) para as variáveis malte:adjunto e tempo. Outras variáveis estudadas, não foram estatisticamente significativas.

O modelo de primeira ordem obtido das variáveis codificadas, considerando apenas os coeficientes de regressão estatisticamente significativos a $p < 0,10$ (TABELA 24), para PROTEÍNA (%), é:

$$\text{PROTEÍNA (\%)} = 34,26778 + 3,808206 M + 2,550217 T$$

Onde:

M = malte:adjunto (%)

T = tempo (min)

TABELA 24 – Coeficientes de regressão para a resposta PROTEÍNA (%), considerando somente os termos a $p < 0,10$.

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro Puro	t(3)	p
Média	34,26778	0,428405	79,98917	<0,0001
Malte : Adjunto (L)	3,808206	0,491831	7,742921	0,0044
Tempo (L)	2,550217	0,491831	5,185152	0,0139

Na TABELA 25, os valores de ANOVA obtidos, demonstram que F_{calc} é 6 vezes maior que F_{tab} . A variação explicada foi de 68,88%. O valor é considerado aceitável, considerando as condições do processo. Constatada a validade do modelo, foi possível obter a superfície de contorno na FIGURA 15.

TABELA 25 – ANOVA para PROTEÍNA (%) considerando os coeficientes de regressão com $p < 0,10$.

Fonte de variação	SS	GL	QM	F_{cal}
regressão	286,8764	2	143,4382	16,60486
resíduo	129,5749	15	8,638325	
total	416,4513	17		

$F_{2;15;0,10} = 2,70$; % variação explicada (R^2) = 68,88

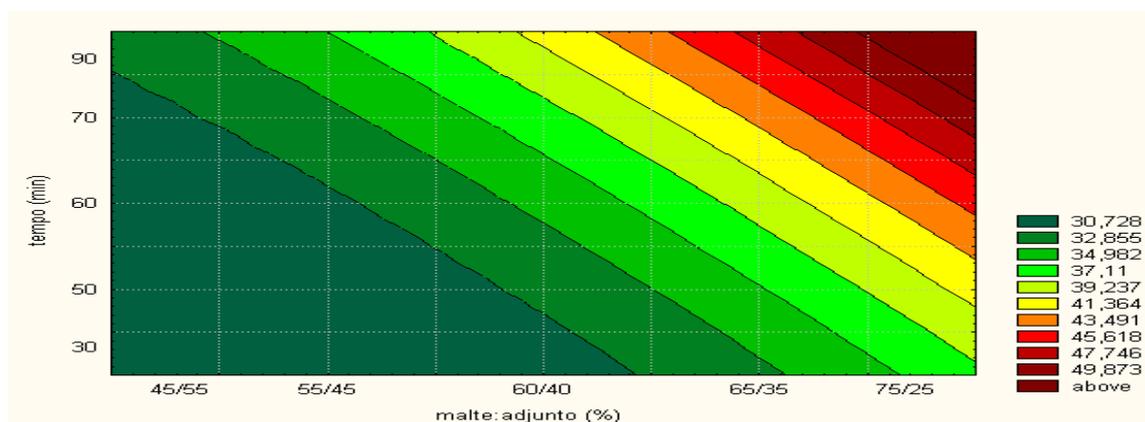


FIGURA 15. Curva de contorno obtida para a resposta proteínas (%) em função do tempo e malte:adjunto.

Na curva de contorno (FIGURA 15) confirma-se como o xarope de alta maltose contribuí para valores reduzidos de proteína na cerveja.

Na TABELA 11, verifica-se que o teor de lúpulo de 0,27g/L dos experimentos 9 e 10 mostra que esse teor de lúpulo é suficiente para levar à uma diminuição nas quantidades finais de proteína com 45% de malte, mas insuficiente para 75%, ficando mais proteína no produto final.

6. CONCLUSÃO

1. É válido o uso do extrato de malte na produção de cerveja. As cervejas obtidas estiveram dentro do padrão *Pilsen*;
2. Confirma-se que fermentações feitas com extrato de malte concentrado são mais lentas do que pelo método tradicional com malte moído. O motivo para tal lentidão pode ser devido à falta de aminoácidos livres ou pela atividade tóxica de produtos originados da reação de Maillard;
3. Para se obter cervejas claras com o uso de extrato de malte, se faz necessário o uso de xarope de alta maltose que não contribui com o aumento da proteína, obtendo assim cervejas mais claras;
4. O tempo de fervura ou a tentativa de lupulação em mostos concentrados podem ter prejudicado a isomerização do lúpulo e seu valor de amargor. Como alternativa, poderia se aplicar extrato de lúpulo pré-isomerizado.
5. Para mais eficiente complexação polifenol-proteína, as cervejas obtidas deveriam partir de maiores teores de lúpulo para complexar mais proteínas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABMIC – Associação Brasileira das Microcervejarias. Disponível em: <<http://www.abmic.hpg.ig.com.br>> Acesso em: 13 out. 2006.

AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS – ASBC. **Methods of analysis of the American Society of Brewing Chemists**. Madison: American Society of Brewing Chemists, 1978.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Methods of analysis**; 16^aed. Washington, 1990.

BALDEZ, P. Consumo de bebidas premium ainda é pequeno, mas está em crescimento. **Jornal do Comercio Brasil**, Rio de Janeiro, 17 jul. 2006.

BAMFORTH, C. W. Beer haze. **Journal of America Society of Brewing Chemists**, v. 57, n.3, 1999, p.81-90.

BARCHET, R. Cold Trub: Implications for finished beer, and methods of removal. **Brewing Techniques**, v.2, n.2, mar./abr., 1994.

BARCHET, R. Hot Trub. **Brewing Techniques**, v.1, n.4, nov./dez., 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria n° 166 de 12 de abril de 1977**. Padronização, classificação e comercialização do Malte cervejeiro ou Cevada malteada para fins cervejeiros.

BREWERS ASSOCIATION. Disponível em: <<http://www.beertown.org>> Acesso em: 10 nov. 2006.

BRIGGS, D.E; BOULTON, C.A; BROOKES, P.A; STEVENS, R. **Brewing: science and practice**. England: CRC Press, 2004.

BURT, S. Honey of a brew! **Bee Culture**, v. 131, n. 8, p 35, ago. 2003.

CANBAS, A; ERTEN, H; ÖSZAHIN, F. The effects of storage temperature on the chemical composition of hop pellets. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 1053-1058, 2001.

COGHE, S; HOLLANDER, H. D.; VERACHTERT, H; DELVAUX, F. R. Impact of dark specialty malts on extract composition and wort fermentation. **The Institute of Brewing & Distilling**, v.111, n.1, p.51-60, 2005.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION - **Analytica EBC**. 4 ed., Zürich: Bräurerei- und Getränke-Rundschau, 1995.

DE MATOS, D.; DOS SANTOS, I.; COIMBRA, J.; DA SILVA, P.. Fécula de batata como adjunto de malte na fabricação de cerveja. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, América do Sul, v.23, n.1, 2005.

DELVAUX, F; COMBES, F. J; DELVAUX, F. R. The effect of the wheat malting on the colloidal haze of white beers. **Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.**, v.41 n.1, p.27-32, 2004.

EDUARDO, M. P. **Hidrólise enzimática de mandioca e puba para obtenção de xarope de maltose**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de concentração em ciência e Tecnologia de Alimentos) - ESALQ/USP, Piracicaba.

FISPAL – **Notícias & Mercado**. Disponível em: <[http: www.fispal.com](http://www.fispal.com)>. Acesso em: 20 out. 2006.

FIX, G. J. Belgian malts: some practical observation. **Brewing Techniques**, v.1, n.1, mai./jun., 1993.

FORSTER, R. T; PATINO, H.; SLAUGHTER, J. C. The contribution of post-fermentation bittering to beer composition and stability. **Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.**, v.37 n.1, p.8-15, 2000.

HANSEN, B; WASDOVITCH, B. Malt ingredients in baked goods. **Cereal Foods World**, v.50, n.1, p. 18-22, 2005.

HAIJ-ISA, N. M. A. **Estudo do uso de conservadores associados a tratamento térmico brando na preservação de cerveja à temperatura ambiente**. 2000. Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas.

HARDWICK, W.A. **Handbook of Brewing**. New York: Marcel Dekker, 1994.

HICKENBOTTOM, J. W. Processing, types and uses of barley malt extracts and syrups. **Cereal Foods World**, v.41, n.10, p.788-790, 1996.

HITCHCOCK, E. Kitchen Anthropology: home brewing an ancient beer. **Brewing Techniques**. v.2, n.5, set./out., 1994.

IRWIN, A. J; MURRAY, C. R; THOMPSON, D. J. An Investigation of the relationships between hopping rate, time of boil, and individual alpha-acid utilization. **Journal American Society of Brewing Chemists.**, v.43, n.3, p.145-152, 1984.

IROKAWA, A.I. **Projeto Brasil-Cerveja**. Trabalho elaborado pela Kronen e Brasil & Partners, p. 5 – 12, 2005.

JACOBSEN, T; HAGE, T. Hop utilization in the brewery – an interbrewery comparison. **Journal American Society of Brewing Chemists**, v.47, n.3, p.62-67, 1989.

KALNIN, J. R. **Avaliação estratégica para implantação de pequenas cervejarias**.1999. cap2. p. 5-19. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Produção, UFSC, Florianópolis.

KING, K. Water Treatment: Philosophy, Approach, and Calculations. **Brewing Techniques**, v.1, n.3, set./out., 1993.

KÜHBECK, F; SCHÜTZ, M.; THIELE, F; KROTTENTHALER, M; BACK, W. Influence of lauter turbidity and hot trub on wort composition, fermentation, and beer quality. **Journal American Society of Brewing Chemists**, v.64, n.1, p.16-28, 2006.

LAPLANE, M.F. **Boletim NEIT** – núcleo de economia industrial e da tecnologia. Campinas: IE/UNICAMP, nº4, mai. 2004.

LEIPER, K.A; STEWART, G. G; McKEOWN, I. P; NOCK, T; THOMPSON, M.J. Optimising beer stabilization by the selective removal of tannoids and sensitive proteins. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 111, n.2, p. 118-127, 2005.

LODAHL. M. Malt extracts: cause for caution. **Brewing Techniques**, v.1, n.2, jul./ago., 1993.

MALDONADO, H. G; LOPES, O. P. Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n.5, p. 373-403, 1995.

MALOWICKI, M. G; SHELLHAMMER, T. H. Isomerization and degradation kinetics of hop (*humulus lupulus*) acids in a model wort-boiling system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4.434 – 4.439, 2005.

MALOWICKI, M. G; SHELLHAMMER, T. H. Factors affecting hop bitter acid isomerization kinetics in a model wort boiling system. **Journal of America Society of Brewing Chemists**, v. 64, n.1, p.29-32, 2006.

MEBAK. **Brautechnische Analysenmethoden**. vol 2. Weihenstephan, 1993.

MICHEL, R. A; VOLLHALS, B. Dynamic wort boiling. **Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.** v.40, n.1, p.25-29, 2003.

ODIBO, F.J.C; NWANKWO, L.N; AGU, R.C. Production of malt extract beer from Nigerian sorghum varieties. **Process Biochemistry**, v.37, p. 851-855, 2002.

OWUAMA, C. I. Sorghum: a cereal with larger beer potential. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.13, n.3, p. 253-260, 1997.

OUTTERSON D. R. Great commercial beer from malt extract. **Brewing Techniques**, v.1, n.4, nov./dez., 1993.

PAIK, J; LOW, N. H; INGLEDEW, W.M. Malt Extract: relationship of chemical composition to fermentability. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v.49, n.1, p. 8-13, 1991.

PAPAZIAN, C. What the small brewers of america are up to. **Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.**, v.26 n.3, p.108-112, 1989.

PERPETE, P; COLLIN, S. How to improve the enzymatic worty flavour reduction in a cold contact fermentation. **Food Chemistry**, v.70. n.4, p. 457-462, 2000.

REINOLD, M. R. **Manual prático de cervejaria**. São Paulo: Aden Editora, 1997.

RODRIGUES, M. I; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**: uma estratégia seqüencial de planejamentos. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005.

ROSA, S.E.S; COSENZA, J.P; LEÃO, L.T.S. Panorama do Setor de Bebidas no Brasil. **BNDES Setorial**: Rio de Janeiro, n.23, p. 127-137, mar. 2006.

SCHILDBACH, R; BURBIDGE, M. Barley varieties and their relationships between barley, malt and beer quality, **Cerevisia**, v.19 n.1, p.34-49, 1994.

SCHINDLER, E. Go against the grain, be the brewmaster. **Information Week**, n. 863, p.119, 12 nov. 2001.

SCHISLER, D. O; RUOCCO, J. J; MABEE, M. S. Wort trub content and its effects on fermentation and beer flavor. **Journal American Society of Brewing Chemists.**, v.40, n.2, p.57-61,1982.

SEBRAE. Idéias de negócios: microcervejarias. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br>>. Acesso em: 03 nov. 2006.

SIEBERT, K.J; LYNN, P. Y. Mechanisms of beer colloidal stabilization. **Journal American Society of Brewing Chemists**, v.55, n.2, p.73-78, 1997.

SINDICERV – Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja. **Mercado**. Disponível em: <<http://www.sindicerv.com.br/mercado.php>>. Acesso em: 10 set. 2006.

SLEIMAN, M. **Produção de cerveja com extrato de malte nas formas de xarope e pó: Análise físico-química, sensorial e energética**. 2002. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de concentração em energia na agricultura), UNESP, Botucatu.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P; GOSMANN, G; MELLO, J. C. P; MENTZ, L. A; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 3 ed. Florianópolis: Ed. Universidade/UFGRS/ Ed. da UFSC, 2001. p.527-533.

VAN NIEROP, S. N. E; EVANS, D. E; AXCELL, B.C; CANTRELL, I. C; RAUTENBACH, M. Impact of different wort boiling temperatures on the beer foam

stabilizing properties of lipid transfer protein 1. **Journal of Agricultural and food chemistry**. v.52, p. 3120-3129, 2004.

VANDERHAEGEN, B; NEVEN H.; VERACHTERT, H.; DERDELINCKX, G. The chemistry of beer aging – a critical review. **Food Chemistry**. v. 95, p. 357-381, 2006.

VARNAM, A.H; SUTHERLAND, J.P. **Bebidas**: tecnologia, química y microbiologia. Madrid: Acribia, cap. 7, p. 307–375, 1997.

VENDA de cerveja cresce 7,3% nos primeiros cinco meses do ano. **Gazeta Mercantil**, São Paulo, 17 jul. 2006.

VENTURINI FILHO, W. G; CEREDA, M. P. Hidrolisado de fécula de mandioca como adjunto de malte na fabricação de cerveja: avaliação química e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.2, p 1-14,1998.

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

VENTURINI FILHO, W.G. **Tecnologia de Bebidas**: matéria prima, processamento. BPF/APPCC, legislação e mercado. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p. 347-379.