



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

DARLAN MARTINS DO NASCIMENTO

**PRODUÇÃO DE CERVEJA CREAM ALE UTILIZANDO LEVEDURA NÃO
CONVENCIONAL (*Torulaspora delbruecki*)**

BELÉM - PA

2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

DARLAN MARTINS DO NASCIMENTO

**PRODUÇÃO DE CERVEJA *CREAM ALE* UTILIZANDO LEVEDURA NÃO
CONVENCIONAL (*Torulaspota delbruecki*)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como requisito final para obtenção do título
de Bacharel em Química Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira

BELÉM - PA

2021

DARLAN MARTINS DO NASCIMENTO

**PRODUÇÃO DE CERVEJA *CREAM ALE* UTILIZANDO LEVEDURA NÃO
CONVENCIONAL (*Torulaspora delbruecki*)**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito final para
obtenção do título de Bacharel em Química
Industrial.

Resultado: APROVADO

Defendido em: 28 / 08 / 2021

Banca examinadora:

Prof. Dr. Nelson Ferreira Rosa (PPGCTA - ITEC – UFPA- Orientador)

Prof. Dr. Anderson Henrique Lima e Lima (PPGQM – ICEN - UFPA -
membro)

Dr. Gilson Albuquerque Chagas Junior (Centro Universitário do Pará-CESUPA)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que fizeram parte da minha formação acadêmica, apoiando e incentivando minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para a conclusão desse ciclo, em especial:

A minha família, por não medirem esforços sempre me inspirando e fazendo acreditar que tudo é possível.

A esta universidade e seu corpo docente, que além da formação profissional contribuíram para uma formação cidadã.

Ao meu orientador Prof. Dr. Nelson Ferreira Rosa, pelo conhecimento transmitido durante os anos de orientação e por sempre se prontificar a fornecer todo suporte quando necessário.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

A cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais populares, sendo de grande produção e consumo pelo mundo. É obtida por via fermentativa, e tradicionalmente se utiliza o gênero *Saccharomyces* e o mosto, composto por água, malte, lúpulo e levedura. Acentuou-se a partir do século XXI, no Brasil, e em outros países a expansão do mercado de cervejas artesanais. Diante disso, vem se destacando o uso de leveduras não convencionais na regulação da etapa de fermentação. No estudo em questão, avaliou-se a utilização da *Torulaspora delbrueckii* na produção da cerveja *cream ale*. Para tanto, usou-se um kit cervejeiro para 10L da marca Maltessência (Canoas - RS/Brasil), estilo *Cream Ale*, o kit continha os seguintes itens: extrato de malte *cream ale* (1 lata de 1kg); lúpulo Cascade 4,5% (5 gramas; 1ª adição); lúpulo Cascade 4,5% (10 gramas; 2ª adição). Foi utilizada a levedura *T. delbrueckii*. Na ocasião, processou-se a: sanitização dos equipamentos, ativação da levedura, fervura, fermentação, contagem de células vivas, maturação e acabamentos. Os resultados evidenciaram que a levedura isolada tem um melhor crescimento em temperatura mais elevada, 25 °C, do que em temperatura mais baixa. A *T. delbrueckii* por ser isolada em um ambiente selvagem tem uma tendência a fermentar açúcares específicos no seu habitat, não sendo domesticada como as leveduras comerciais para metabolizar um espectro maior de açúcares cervejeiros. O baixo teor alcoólico pode ser explicado pelo fato que cada levedura atenua açúcares de maneira característica.

PALAVRAS-CHAVE: Produção de cerveja, *Cream ale*, Levedura não convencional.

ABSTRACT

Beer is one of the most popular alcoholic beverages, being widely produced and consumed around the world. It is obtained by fermentation, and traditionally the genus *Saccharomyces* and must are used, composed of water, malt, hops, and yeast. From the 21st century onwards, in Brazil and in other countries, the expansion of the craft beer market was accentuated. In the study in question, the use of *Torulaspora delbrueckii* in the production of cream ale beer was evaluated. Therefore, the use of unconventional yeasts in the regulation of the fermentation stage has been highlighted. For this purpose, was used a beer kit for 10L of the Maltessência brand (Canoas - RS / Brazil) - Cream Ale style. The kit contained the following items: extract of malt cream ale (1 1kg can); hops Cascade 4.5% (5 grams; first addition); hops Cascade 4.5% (10 grams; second addition). The results showed that the isolated yeast grew better at a higher temperature, 25 °C, than at a lower temperature. As *T. delbrueckii* is isolated in nature, it tends to ferment specific sugars in its habitat, not being domesticated as commercial yeasts to metabolize a broader spectrum of beer sugars. The low alcohol content can be explained because each yeast species can attenuate sugars differently.

KEYWORDS: Beer production, Cream ale, Unconventional yeast.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Malte em grãos.....	19
Figura 2 - Flor de Lúpulo.....	21
Figura 3 - Ilustração do α -ácido	22
Figura 4 - Isomerizações do α -ácido	24
Figura 5 - Brotamento da levedura <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	25
Figura 6 - Formação de etanol, glicerol e CO ₂	25
Figura 7 - Típica curva de crescimento das leveduras cervejeiras	27
Figura 8 - Observação microscópica de células de <i>Torulaspota delbrueckii</i>	28
Figura 9 - Etapas de produção da cerveja	34
Figura 10- Representação das fases de crescimento da levedura	40
Figura 11- Relação entre temperatura e o crescimento celular da levedura	41
Figura 12- Relação entre células viáveis e teor alcoólico do mosto	43
Figura 13- Índice percentual das idades dos participantes	44
Figura 14- Índice percentual do consumo de cervejas artesanais	44
Figura 15- Índice percentual do interesse de consumir uma cerveja com levedura amazônica	45
Figura 16- Índice percentual da disposição de pagar um certo valor na cerveja fabrica com levedura amazônica	45

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Composição da água dos principais centros cervejeiros (ppm)	18
Tabela 2 - Composição do grão de cevada e do malte	19
Tabela 3 - Composição química do lúpulo	21
Tabela 4 - Características químicas do lúpulo cascade (Parte I)	23
Tabela 5 - Características químicas do lúpulo cascade. (Parte II)	24
Tabela 6 - Resultado das variáveis da fermentação	40
Tabela 7 - Teor alcoólico nos dias decorridos da fermentação	42
Tabela 8 - Resultados esperados de acordo com a fabricante do extrato de malte	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aw - Atividade da água

ATP – Adenosina trifosfato

ABV – Teor de etanol

°Br – Grau brix

D.C – Depois de Cristo

EBC – European Brewing Convention

g - gramas

IBU - Internacional Bitterness Unit

Log - Logaritmo

mL – Mililitro

mg – Miligrama

m/m – Percentual massa - massa

pH – Potencial hidrogeniônico

ppm – Partes por milhão

p/p – Percentual peso – peso

SRM - Standard Reference Method

CO₂ – Gás carbônico

UFC/mL - Unidades formadoras de colônias

Na⁺ - Sódio

Mg²⁺ - Magnésio

Ca²⁺ - Cálcio

Cl⁻ - Cloro

SO₄²⁻ - Ânion sulfato

HCO₃³⁻ - Ânion carbonato

µm – Micrómetro

nm - nanomêtro

XIX – Século 19

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. OBJETIVOS GERAL	16
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICAS	17
3.1. CONSTITUINTES DA CERVEJA	17
3.1.1. Água	17
3.1.2. Malte	18
3.1.3. Extrato de malte	20
3.1.4. Lúpulo	20
3.1.4.1. Lúpulo cascade	23
3.1.5 Levedura	24
3.1.5.1. Leveduras não convencionais	27
3.1.5.2. Torulaspora Delbrueckii	28
3.2. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DA CERVEJA	29
3.2.1. Brassagem	29
3.2.2. Fermentação	30
3.2.3. Maturação	31
3.2.4. Acabamento	31
3.3. PRINCIPAIS ESTILOS DE CERVEJA	31
3.3.1. Cream ale	32
3.4. PARÂMENTROS DA CERVEJA	32
3.4.1. Alcohol by volum (ABV)	32
3.4.2. International Bitterness Unit (IBU)	33
3.4.3. European Brewing Convention (EBC)	33
3.4.4 Standard Reference Method (SRM)	33
3.4.5 Intenção de consumo	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1. PRODUÇÃO DE CERVEJA	34
4.1.1. Etapas de produção da cerveja	34
4.1.2. Sanitização dos equipamentos	35

4.1.3. Ativação da levedura	35
4.1.4. Fervura	35
4.1.5. Fermentação	36
4.1.6. Contagem de células viáveis	36
4.1.7. Maturação	37
4.1.8. Envase.....	37
4.2. DETERMINAÇÃO DA COR POR ESPECTROFOTOMETRIA – EBC. (AOAC OFFICIAL METHOD 976.08).	37
4.3. DETERMINAÇÃO DAS UNIDADES DE AMARGOR (IBU) (AOAC OFFICIAL METHOD 970.11).	38
4.4. PERQUISA INTENÇÃO DE CONSUMO	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FERMENTATIVO DA LEVEDURA	39
5.2. CARACTERIZAÇÕES DA LEVEDURA <i>TORULOSPORA</i> <i>DELLBRUELKKI</i>	39
5.3. PARÂMETROS CERVEJEIROS	43
5.4. INTENÇÃO DE CONSUMO	44
6. CONCLUSÃO	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1. INTRODUÇÃO

A cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais antigas, durante a idade média a responsabilidade pela produção caseira da cerveja foi assumida pelas mulheres, e era servida para toda família, incluindo no desjejum. Diferentemente do vinho, que era uma bebida cara e de difícil acesso para a classe social baixa, a cerveja era uma opção acessível e barata. (MORADO, 2011). Especula-se que sua descoberta foi de forma involuntária, onde os grãos molhados fermentaram naturalmente, produzindo assim as primeiras cervejas.

Acentuou-se a partir do século XXI, no Brasil, e em outras partes pelo mundo um movimento de valorização do cervejeiro. No cenário nacional, houve mudanças com relação ao modo das pessoas conceberem a bebida, daí se tem o surgimento e rápida expansão da produção e do consumo de cervejas artesanais (GIORGI, 2015). Com o passar dos tempos surgiram às cervejas artesanais que são produzidas principalmente visando a maior qualidade do produto final, ou seja, cervejas mais encorpadas, feitas com produtos diferenciados e nobres, tornando as mais complexas que as tradicionais.

As bebidas alcoólicas são responsáveis por uma parte significativa do comércio brasileiro, constituindo um importante setor na indústria de transformação. Segundo o BNB (2017) em 2014 correspondeu a 3 % do valor da produção da indústria de transformação. No Brasil, a cerveja é a bebida alcoólica mais consumida, representando aproximadamente 90 % do mercado (SEBRAE, 2016). O mercado brasileiro de cerveja é o terceiro maior do mundo, ficando atrás apenas da China e EUA. Com uma produção de quase 14 bilhões de litros, o consumo médio no Brasil é de mais de 68 litros por habitante/ano. Porém, comparando-se à República Tcheca, com 143 litros/habitante/ano ou Alemanha com 106 litros/habitante/ano, ainda há espaço para o crescimento (BRESSIANI, 2017).

A legislação brasileira, artigo 36 do decreto Nº 6871 de 2009, define cerveja como sendo uma bebida obtida através de fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo. No Brasil, o responsável pelo registro, classificação, padronização, inspeção, controle e fiscalização de bebidas alcoólicas e não alcoólicas, é o Ministério da Agricultura. (BARROS, 2018).

A produção da cerveja passa por diversas etapas, como preparo do mosto, fermentação e maturação, que podem variar de acordo com o produto final desejado. A etapa mais importante do processo é a fermentação, um processo biológico pelo qual as leveduras crescem e se reproduzem através do consumo de açúcares fermentescíveis. Como resultado desse

metabolismo, energia é liberada e há a formação de etanol, gás carbônico e outros metabólitos secundários, que ajudam a compor o aroma da cerveja (BARTH, 2013).

As cervejas são classificadas em dois tipos quanto à fermentação: *lager* (baixa fermentação) e *ale* (alta fermentação). Cervejas do tipo *lager* são fermentadas à temperatura entre 7 °C a 15 °C e a duração da fermentação e da maturação são de sete a dez dias. Já as cervejas tipo *ale* são fermentadas nas temperaturas de 18 °C a 22 °C e a duração da fermentação e da maturação é de três a cinco dias. (ARAÚJO; SILVA; MINIM, 2003).

Dessa forma, a levedura empregada na produção da cerveja torna-se um fator importante no processo, já que é o microrganismo responsável pela etapa fundamental. As leveduras atualmente empregadas na fabricação da cerveja artesanal são geralmente importadas. Assim, vários estudos para o isolamento, cultivo e avaliações do potencial fermentativo têm sido realizados, devido à grande variedade da microbiota nacional, ainda pouco explorada para esse tipo de aplicação.

Nesta busca por novas alternativas surge o uso de leveduras não convencionais em processos controlados de fermentação, inoculando culturas puras para conduzir uma parte ou todo o processo fermentativo como objetivo de, por exemplo, enriquecer a cerveja com um composto de interesse (BASSO, 2019).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é a avaliar a capacidade fermentativa da levedura *Torulospora delbruekii* isolada na microflora amazônica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação da levedura *Torulospora delbruekii* frente a um mosto cervejeiro;
- Estabelecer etapas para produção da cerveja e caracterização dentro do estilo escolhido;
- Avaliar a intenção de consumo da cerveja obtida.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. CONSTITUINTES DA CERVEJA

Os ingredientes básicos para a produção da cerveja são a água, cevada maltada, lúpulo e levedura, de acordo com o estabelecido na Alemanha pela legislação que rege a fabricação de cerveja comercial, o Reinheitsgebot (Lei da Pureza) (BGBL, 2020). As tecnologias de fabricação de cerveja em todo o mundo são baseadas nesta receita, embora fabricantes de cerveja em outros países tenham mais flexibilidade, por exemplo, na seleção do suprimento de amido.

3.1.1. Água

A água é a matéria-prima mais importante na produção da cerveja, em termos de quantidade ela representa 85 % a 95 % da maioria das cervejas (OLIVER, 2011). Historicamente as características dos diferentes estilos de cerveja foram influenciadas pela composição da água usada na sua produção. (Costa, 2016). Sua composição química é importante no processo de produção da cerveja, influenciando em todas as etapas de produção desde etapas como limpeza, resfriamento, geração de vapor, etc.

Para Palmer (2006) os minerais presentes na água podem afetar a conversão do amido em mosto, no entanto, uma vez que os açúcares tenham sido produzidos, o efeito da composição da água no sabor da cerveja é reduzido. A dureza da água também é um fator importante devido à presença de substâncias químicas, por exemplo, de magnésio e cálcio. (ABDALLA et. al., 2010).

De acordo com ROSA & AFONSO (2015) há dois tipos de água utilizados na preparação da cerveja são elas a água cervejeira, usada no preparo do malte para a moagem, na rinsagem final, na lavagem de objetos como garrafas, e a água de serviço utilizada em procedimentos, locais e equipamentos. Ainda segundo ROSA & AFONSO (2015) a água deve preencher alguns requisitos para que possa ser empregada no processo de fabricação da cerveja, são eles: Livre de turbidez, pH controlado e padrões microbiológicos. Na tabela 1 é apresentado a composição mineral da água dos principais centros cervejeiros do mundo.

Tabela 1 - Composição da água dos principais centros cervejeiros (ppm).

	Na⁺	Mg⁺²	Ca⁺²	Cl⁻	SO₄²⁻	HCO³⁻
Birtoun-on-Trent	54	24	352	16	820	320
Pilsen	32	8	7	5	6	37
Munique	10	19	80	1	6	333
Londres	24	4	90	18	58	123
Dublin	12	4	119	19	54	319
Dourtmund	60	23	260	106	283	549

Fonte: Adaptado de AQUARONE (2005)

3.1.2 Malte

O malte é o produto obtido pela germinação controlada das sementes de cereais como a cevada, o trigo, milho e arroz, para emprego industrial. Apesar de diversos cereais poderem ser maltados, a cevada é o mais adequado para a fabricação de cerveja devido à sua composição química e características físicas (CEPPI; BRENNNA, 2010).

Segundo Palmer (2006), maltar é o processo no qual o grão de cevada é umidificado para dar início ao processo de germinação. Os maltes utilizados por cervejeiros são tipos específicos que visam produzir uma gama de açúcares fermentáveis. De acordo com ROSA & AFONSO (2015) O malte reúne características que justificam sua utilização na produção de cerveja: é rica em amido, contém enzimas, possui uma casca que confere proteção ao grão durante a malteação e dá o aroma e sabor característicos do produto (ZUPPARDO, 2010).

Figura 1 - Malte em grãos



Fonte: Hominilupulo (2015)

O processo de malteação é dividido em três etapas (Silva & Faria, 2008): Maceração – fornece água ao grão para que ele inicie a germinação; Germinação – é conduzida em caixas preparadas com rigoroso controle de temperatura, umidade, oxigênio e CO₂. Ocorre com umidade em torno de 45-50%; Secagem – torna o malte estável e armazenável por meio do processo de desumidificação. Encerra o processo fisiológico e define o paladar, o aroma e a cor desejados.

A finalidade da maltagem no grão de cevada é elevar o conteúdo enzimático dos grãos através da síntese de amilases, proteases, glucanases, etc., aumentando assim o seu poder diastático. Durante a fase de mosturação essas enzimas atuarão como catalisadores das reações de quebra das macromoléculas (proteínas, amido, glucano, etc.) presentes nas matérias primas, em compostos mais solúveis no mosto (AQUARONE, 2005). A tabela 2 exemplifica a ocorrência de mudanças na composição do grão de cevada em função da maltagem.

Tabela 2 - Composição do grão de cevada e do malte.

Características	Cevada	Malte
Massa do grão (mg)	32-36	29-33
Umidade (%)	10-14	4-6
Amido (%)	55-60	50-55
Açúcares (%)	0,5-1,0	8-10
Nitrogênio total (%)	1,8-2,3	1,8-2,3
N_{solúvel} / N_{total} (%)	10-12	35-50
Poder diastático, °Lintner	50-60	100-250
α-amilase, DU	Traços	30-60
Atividade proteolítica	Traços	15-30

Fonte: Adaptado de VENTURINI FILHO (2010).

3.1.3. Extrato de malte

Extrato de malte é o resultante da desidratação do mosto de malte até o estado sólido, ou pastoso, devendo apresentar as propriedades do mosto de malte quando reconstituído, sendo permitidas substituições do malte de cevada pelo extrato. (BRASIL, 1997). Segundo Teles (2017) a produção é por meio de evaporação conduzida a vácuo, onde o mosto é convertido em um xarope com aproximadamente 80% de sólidos. Com elevado teor de sólidos, e baixa atividade da água (a_w : 0,7-0,75), têm-se barreiras para o desenvolvimento de microrganismos.

De acordo com a temperatura empregada pode-se produzir extratos de malte de tonalidades diferentes e, portanto, sabores diferentes. As etapas finais da sua produção incluem: filtração, resfriamento e empacotamento (HICKEBOTTOM, 1996). O extrato de malte é amplamente usado no mercado cervejeiro, mesmo possuindo um alto valor. Por que, agregam custos de produção, embalagem e transporte. No entanto, ainda sim, seu uso é vantajoso na produção de cerveja, sendo muito menor se comparado pelo método tradicional (TELES, 2017). 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. (TELES, 2007).

3.1.4. Lúpulo

O lúpulo é o ingrediente da cerveja que fornece amargor, aumenta a estabilidade microbiológica, ajuda a estabilizar a espuma e influência no aroma e sabor. É uma flor cônica de plantas trepadeiras, nativa do hemisfério norte. O primeiro registro da utilização de lúpulo na fabricação de cerveja data de 822 D.C., quando o abade Adalhard, do mosteiro Beneditino de Corbie, no nordeste da França fez um registro afirmando que seus monges adicionaram lúpulo a sua cerveja (OLIVER, 2011).

Inicialmente, o lúpulo foi utilizado para auxiliar na conservação da cerveja, pois antigamente o transporte por navios demorava meses, e a cerveja azedava rapidamente. Segundo Briggs et al. (2004) muitas ervas foram utilizadas na tentativa de prolongar o tempo de prateleira da cerveja, mas somente o lúpulo é usado em larga escala até os dias atuais. A figura 2 ilustra a flor de lúpulo.

Figura 2 - Flor de lúpulo.



Fonte: Revista da cerveja

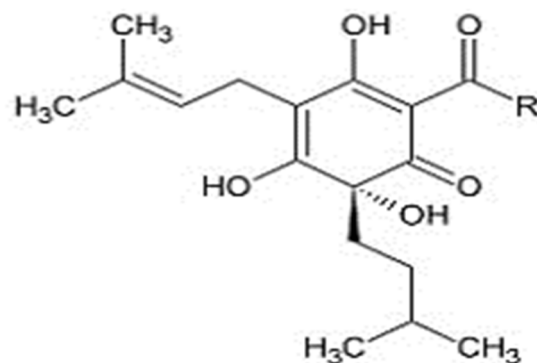
Os óleos essenciais, os alfas e beta ácidos, presentes no lúpulo são os principais responsáveis pelo amargor da cerveja. Para Palmer (2006) o amargor proporciona um equilíbrio juntamente com a doçura dos açúcares do malte. A composição química das flores do lúpulo é complexa, e uma das maneiras de investigá-la é agrupar os metabólitos secundários produzidos pela planta em diferentes frações como, por exemplo, resinas totais, polifenóis, óleos essenciais, proteínas, ceras, esteroides, entre outros (DURELLO et al., 2019). Na Tabela 3, podem ser observadas as principais classes dos constituintes majoritários em flores de lúpulo e suas respectivas quantidades médias expressas em 10% de umidade.

Tabela 3 - Composição química do lúpulo.

Constituinte	Quantidade % (m/m)
Resinas totais	15-30
Óleos essenciais	0,5-3
Proteínas	15
Monossacarídeos	2
Polifenóis	4
Pectinas	2
Aminoácidos	0,1
Ceras e esteroides	Traços-25
Cinzas	8
Água	10
Celulose/lignina	43

Fonte: Durello (2019).

Os α -ácidos são a fração mais importante das resinas de lúpulo e responsáveis pelo sabor amargo da cerveja. Eles são secretados pelas glândulas de lupulina dos cones de lúpulo na forma de um pó amarelo (OKADA e ITO, 2001). Os α -ácidos são uma mistura de seis análogos de humulona que podem ser encontrados em todas as variedades de lúpulo, sendo os principais a humulona, a cohumulona e adhumulona (BRIGGS et al., 2004).

Figura 3 - Ilustração do α -ácido

Fonte: Karabín (2016)

Tabela 4 - Características químicas do lúpulo cascade. (Parte I)

COMPONENTES DE AMARGOR	
DESCRIÇÃO	FAIXA
Ácido alfa (p/p)	4,8 – 7%
Ácido beta (p/p)	4,8 – 7%
Relação Alfa/Beta	0,6 – 1,5
Cohumulona (% A.Alfa)	33 – 40%

Fonte: Catálogo casa OLEC³

Tabela 5 - Características químicas do lúpulo cascade. (Parte II)

COMPONENTES DE AMARGOR	
DESCRIÇÃO	FAIXA
Óleo total (em 100 g)	0,7 – 1,4mL
Mirceno	45 – 60 %
Humuleno	8 – 13 %
Cariofileno	3,5 – 5,5%
Farneseno	3 – 7 %

Fonte: Catálogo casa OLEC

3.1.5 Levedura

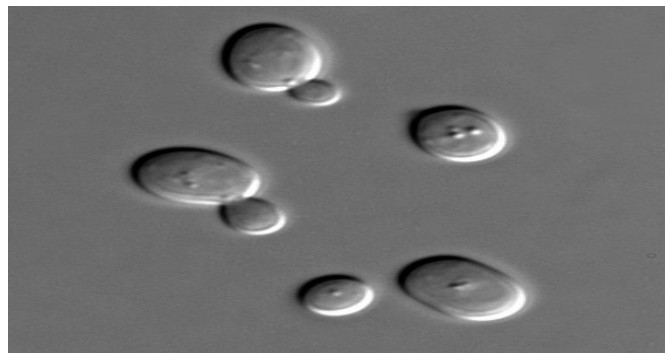
Há milênios, o homem utiliza leveduras para a produção de pão, cerveja, vinho, bebidas e outros alimentos obtidos através de fermentação. Nos dias atuais, elas são utilizadas em diversos processos fermentativos, visando à produção de variados tipos de produtos. (AQUARONE 2005).

O sabor e aroma de qualquer cerveja estão determinados de forma preponderante pelo tipo de levedura que será utilizada. Apesar de o etanol ser o produto principal produzido pela excreção da levedura durante a fermentação do mosto, este álcool primário tem pequeno impacto no sabor da cerveja, sendo que a concentração e o tipo de outros produtos de excreção, formados durante a fermentação, são quem primariamente determinam o sabor da cerveja. (BARROS, 2018).

Segundo Stewart (2016) não existe uma definição satisfatória de levedura que inclua propriedades comumente encontradas como fermentação alcoólica e crescimento por

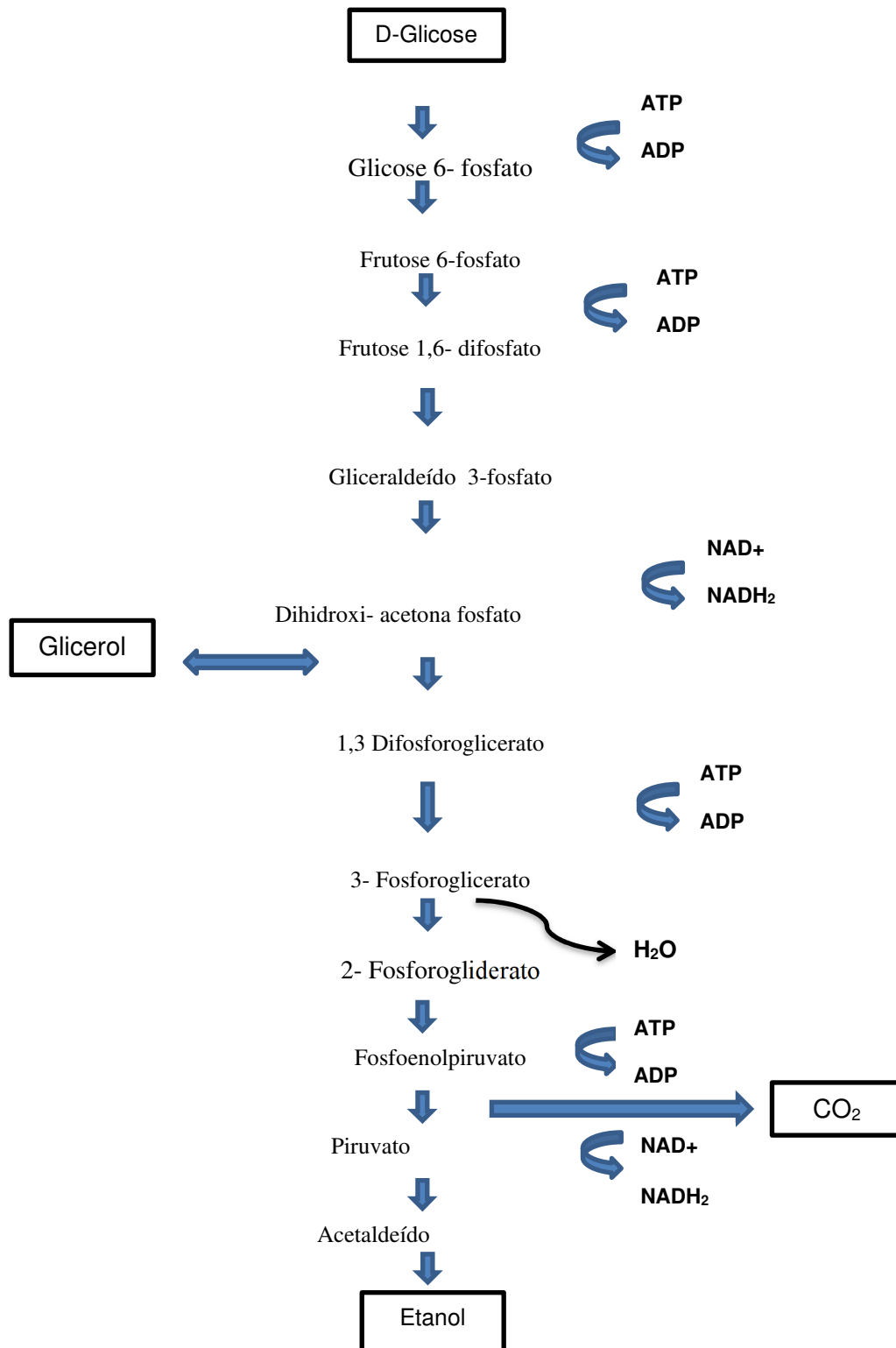
brotamento. Este último não é incomum em leveduras e quase todas as cepas de levedura de cerveja se multiplicam por brotamento (Figura 5). As leveduras utilizadas na produção de cerveja pertencem à espécie *Saccharomyces cerevisiae*. O gênero *Saccharomyces* apresenta várias cepas consideradas seguras e capazes de produzir dois metabólitos primários importantes, etanol e dióxido de carbono. Os dois tipos de cerveja mais importantes (lager e ale) são fermentados com cepas de *S. uvarum* (*carlsbenguensis*) e *S. cerevisiae*, respectivamente. (VENTURINI FILHO, 2010).

Figura 5 - Brotamento da levedura *Saccharomyces cerevisiae*



Fonte: Masur (2010).

Para que a fermentação tenha sucesso, dentro de especificações técnicas, é importante que se misture ao mosto uma quantidade de leveduras capaz de converter os açúcares em álcool e CO₂, dentro de determinadas condições metabolizando os açúcares fermentescíveis a fim de se produzir álcool, CO₂, energia na forma de ATP e calor (YOKOYA, 1995; BOZA; HORII, 2000). As células absorvem açúcares dissolvidos, matéria nitrogenada simples (amino ácidos, íons de amônio e pequenos peptídeos), vitaminas e íons através da membrana plasmática. Posteriormente, eles empregam uma série de reações conhecidas como vias metabólicas (glicólise, biossíntese de constituintes celulares, etc.) e usa esses nutrientes para crescimento e fermentação. É importante enfatizar que os principais produtos da glicólise são: etanol, glicerol e CO₂ (STEWART, 2016).

Figura 6 - Formação de etanol, glicerol e CO₂.

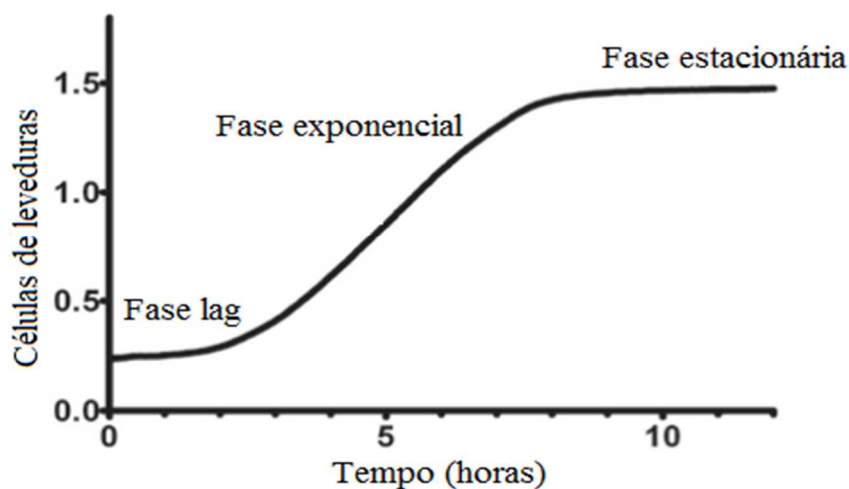
Fonte: Stewart (2016)

Segundo Held (2010) após o plantio, a levedura passará por diferentes estágios de crescimento, como período de adaptação (fase lag), fase logarítmica e fase estacionária.

Usualmente a *Saccharomyces cerevisiae* completa três a quatro ciclos de divisão em uma fermentação. O estágio de adaptação da levedura reflete o tempo necessário para sintetizar as enzimas necessárias para processar os vários nutrientes presentes no meio e ingerir o oxigênio (presente no meio) necessário para a síntese de lipídios ou esteróis. Nesta fase de construção da estrutura da membrana celular, nenhuma atividade é observada, ou seja, não há consumo de açúcar e não é produzido dióxido de carbono (WHITE; ZAIN SHEFF, 2010).

A fase logarítmica é uma fase na qual as células se proliferam ativamente e o número de leveduras continuamente de três a quatro vezes. Geralmente, esse estágio dura 48 h a 60 h, durante as quais os açúcares são fermentados na velocidade máxima (BOAN et al., 2014). Na fase estacionária a taxa de fermentação é reduzida devido à depleção de nutrientes e o número de células de levedura permanece constante porque um pequeno número de nascimentos é compensado por células mortas (BOAN et al., 2014). Nesta fase, as células podem armazenar açúcar na forma de glicogênio (semelhante ao amido).

Figura 7 - Típica curva de crescimento das leveduras cervejeiras.



Fonte: Suhre (2014).

De acordo com Boan et al. (2014) a levedura ideal para a produção de cerveja possui as seguintes características: fermentação rápida e eficiente, crescimento mínimo de levedura, produção estável de compostos de aromas e consistência de sabor, suporte estresse (álcool, CO₂, pressão osmótica e temperatura), boas características de floculação, boa viabilidade e vitalidade, reutilizável e com boa estabilidade genética.

Polaina (2002) diz que existem basicamente dois tipos de leveduras usados na fabricação de cerveja que correspondem aos tipos de cerveja ale e *lager*. A cerveja ale é

produzida por uma levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) de fermentação superior que trabalha aproximadamente à temperatura ambiente, fermenta rapidamente e produz cerveja com um aroma frutado característico. A levedura (*Saccharomyces pastorianus*) *lager* fermenta no fundo a temperaturas mais baixas, cerca de 10 °C a 14 °C fermenta mais lentamente e produz cerveja com um sabor distinto. A grande maioria da produção mundial de cerveja é *lager*.

3.1.5.1. Leveduras não convencionais

A crescente demanda por produtos inovadores com sabores alternativos e cervejas de baixo teor alcoólico tem estimulado à pesquisa dos possíveis benefícios de leveduras não comerciais. Em particular, espécies *não-Saccharomyces cerevisiae* tem sido isoladas e caracterizadas (BUDRONI, 2017). As cepas de leveduras silvestres e não domesticadas de *Saccharomyces cerevisiae* podem fornecer diferentes características de aromas e sabores, resultando em novos estilos de cerveja. Conforme Basso (2019) é fundamental a investigação e conhecimento do metabolismo de leveduras não convencionais, a fisiologia inerente de cada microrganismo com o objetivo de conhecer suas capacidades e limitações.

Para serem aplicadas com sucesso na produção de cervejas, as leveduras devem apresentar características metabólicas adequadas a tal processo, como a capacidade de desenvolver-se e fermentar o mosto cervejeiro, bem como conferir características desejáveis ao produto. (BASSO, 2019).

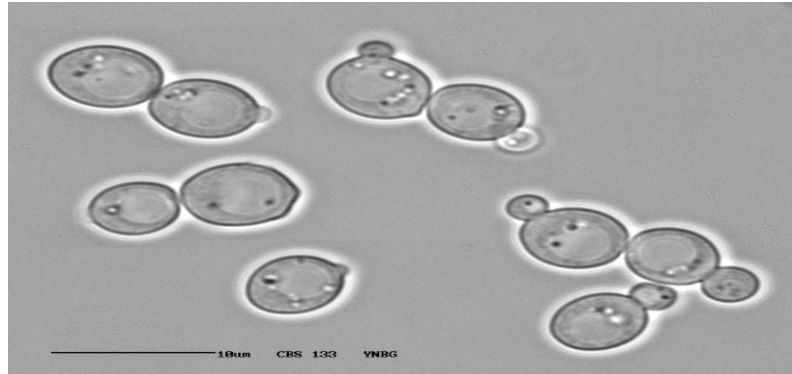
3.1.5.2. *Torulaspora delbrueckii*

Acredita-se que o uso de *Torulaspora Delbrueckii* pelo homem remonta a 4.000 anos, participando da história da humanidade em diversos bioprocessos (Albertin et al., 2014). Cepas dessa espécie estão associadas a variados processos de fermentação de alimentos como pão, cacau e de bebidas como tequila. (Basso et al., 2019). Uma das características mais atraentes de *Torulaspora delbrueckii* para a fermentação de cervejas seja o perfil de produção de compostos de aroma e sabor, como ésteres e álcoois superiores, cervejas produzidas com essa espécie são, geralmente, descritas com perfil organoléptico frutado e floral. (BASSO, 2019).

Segundo Benito (2015), a *Torulaspora* tem células em forma esférica e elipsoidais que são ligeiramente menores do que os da *S. cerevisiae*, com dimensões de aproximadamente 2–4 × 3–5 µm como apresentado na figura 8. O gênero pode se reproduzir assexuadamente por divisão celular em brotamento multilateral. *Torulaspora* pode produzir pseudo-hifas, mas não

hifas reais. A reprodução sexual ocorre através de ascis que contêm um a quatro ascósporos esféricos. Com relação à fisiologia e bioquímica, *Torulaspota* fermenta glicose e outros açúcares.

Figura 8 - Observação microscópica de células de *Torulaspota delbrueckii*.



Fonte: Knaw

Uma forte dominância de *Torulaspota delbrueckii* é geralmente obtida utilizando mostos estéreis ou muito clarificada e uma cepa assassina para inoculação. Dessa forma, o crescimento inicial relativo da população de *Torulaspota delbrueckii* é alto e favorece o seu claro protagonista durante a fermentação. No entanto, como essa levedura é menos resistente que *S. cerevisiae* a altas concentrações de etanol, a taxa de fermentação diminui e a morte celular aumenta após a fermentação tumultuada de mostos ricos em açúcar. Como consequência, a fermentação pode desacelerar e tornar-se lenta, ou continuar principalmente devido à presença de alguns *Saccharomyces* selvagens contaminantes, leveduras, que podem continuar fermentando se os nutrientes necessários ainda estiverem disponíveis (AZZOLINI, 2012; GONZÁLEZ-ROYO, 2014).

A *Torulaspota delbrueckii* é uma espécie de levedura notavelmente onipresente, com reservatórios naturais e habitats associados a atividades humanas (vinificação, contaminações de cerveja e outros bio processos). O potencial da espécie é enorme e tem sido objeto de estudo nas mais diversas formas de fermentação, despontando com uma levedura interessante para a produção de novas cervejas. Portanto, por tudo apresentado acima o presente trabalho se justifica com intuito de confirmar o potencial fermentativo da levedura descrito na literatura.

3.2. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DA CERVEJA

O processo produtivo de cerveja pode ser separado em duas grandes partes, a obtenção do mosto e, em seguida, a produção de cerveja. A primeira parte envolve a moagem do malte, a infusão do malte moído em água (mostura), a filtração e clarificação, fervura e, finalmente, o resfriamento. A segunda etapa é composta pela fermentação, maturação e filtração (KUNZE, 2010).

Dickel et al (2015) relatam que mesmo a cerveja sendo um produto bastante complexo em termos de suas características, o seu processo de fabricação consiste em etapas bastantes simples. O mesmo autor escreve ainda que o processamento da cerveja evoluiu bastante, deixando uma concepção empírica e tomando rumos da modernidade, com técnicas de refinamento e diferenciação da bebida.

3.2.1. Brassagem

Palmer (2006) afirma que a brassagem ou mosturação é o processo de embeber o malte em água de temperatura elevada, no qual irá hidratá-lo e ativar as enzimas que convertem o amido dos grãos em açúcares fermentáveis. Pode-se dizer que é um dos processos mais complexos da etapa de produção.

As enzimas comidas no grão de cevada manada dão início ao processo de hidrólise do amido, transformando-o em maltose e outros açúcares (MATOS, 2011). A quebra enzimática na brassagem é controlada pelos parâmetros de temperatura, viscosidade, pH e tempo em que o malte fica em contato com a água. Diferentes temperaturas ativam diferentes enzimas, que agirão em diferentes partes da molécula de amido, quebrando-as em tamanhos diferentes, gerando açúcares distintos (MATOS, 2011).

3.2.2. Fermentação

O objetivo da fermentação é utilizar a capacidade das células de levedura para converter açúcar em etanol e dióxido de carbono, como os principais produtos do metabolismo (STEVENS; BRIGGS; BROOKS, 2004). Outros produtos também são formados como ésteres, álcoois superiores e ácidos que contribuem para o sabor da cerveja. Por isso, a fermentação é a etapa mais importante para definir o paladar da cerveja.

A fermentação alcoólica preserva os alimentos, tanto diminuindo o pH, como produzindo etanol, condição na qual poucos organismos, além de leveduras, conseguem sobreviver (FERREIRA, 2006). A ativação da levedura é um método de preparo, onde inicialmente o microrganismo se adapta ao mosto. A fase de ativação é predominantemente aeróbica, em que as leveduras se reproduzem utilizando oxigênio, proteínas e outras substâncias, aumentando sua quantidade até seis vezes mais. (MATOS, 2011).

Segundo Ferreira (2016) há quatro tipos de fermentação: baixa fermentação, alta fermentação, fermentação espontânea e a fermentação mista. No Brasil é mais comumente utilizada a baixa fermentação. Esta fermentação ocorre de forma lenta, e dura algumas semanas. A alta fermentação é comum em cervejas do tipo Ale.

O controle de temperatura na fermentação é crucial e tem impacto significativo no desenvolvimento do sabor da cerveja. Geralmente são utilizadas faixas de temperatura entre 15°C e 22 °C, para alta fermentação, e entre 9°C e 14°C, para baixa fermentação (PHILLISKIRK, 2011). A combinação de temperatura e leveduras específicas gera perfis de sabor muito distintos nas cervejas.

3.2.3. Maturação

A fase de maturação é importante para sedimentação das partículas em suspensão e também para desencadear algumas reações de esterificação que irão produzir alguns aromatizantes essenciais para a cerveja (MATOS, 2011). Ela inclui todas as transformações entre o final da fermentação primária e o envase. Após a fermentação a cerveja ainda não está pronta para o consumo. Isso ocorre porque as fermentações tendem a produzir sabores que são considerados indesejáveis. Por isso a cerveja deve matizar para se tornar palatável. A maturação envolve muitas reações bioquímicas, químicas e físicas, em que muitas delas ainda não são compreendidas (STEWART, 2011).

3.2.4. Acabamento

Alguns produtores realizam ainda a técnica de refermentação na garrafa, conhecida por *priming*, que consiste em adicionar mais uma dose de açúcares a cerveja, antes do envase, para serem consumidos pelas leveduras ainda em suspensão, melhorando o *bouquet* da cerveja, além de aumentar a concentração de dióxido de carbono. (HUGHES, 2014).

3.3. PRINCIPAIS ESTILOS DE CERVEJA

Para Stewart (2011) o estilo da cerveja é a união de todos os seus parâmetros e características, como aparência, teor alcoólico, aroma, paladar, sensações na boca, fermentação, etc. de modo que possam ser reconhecidos, replicados, discutidos e compreendidos. Os três principais estilos de cerveja são as Lager, Ale e as Lambics.

Segundo o Portal Brejas (2018) as principais características dos três grandes tipos de cerveja são: Lager são as cervejas mais consumidas mundialmente, são de baixa **fermentação**, com graduação alcoólica geralmente entre 4% e 5%. O tipo mais conhecido é a Pilsener. Os subtipos dela são as pale lagers, dark lagers, vienna, bock, marzen, keller e zwickel, entre muitas outras; As Lagers (baixa fermentação) apresentam diversas variações quanto ao estilo. São cervejas com índice de amargor mais baixo que as ales e de teor alcoólico menor, são mais refrescantes e mais gasosas. As Ales (alta fermentação) possuem sabor e aroma frutados, são mais encorpadas e complexas e seu teor alcoólico é mais elevado que o das Lagers (BONACCORSI, 2015).

Lambic é classificada como a terceira categoria por causa da sua fermentação que é espontânea. São feitas de trigo e sua fermentação é feita por agentes naturais. Dentro desta definição de cerveja encontram-se diversas variedades, de acordo com fatores como método de produção, ingredientes usados, cor, sabor, aroma, receita, história, origem e assim por diante.

3.3.1. Cream ale

Segundo o site Central brew (2020), a Cream Ale é um tipo de cerveja americana que é uma variante da Pilsners popular no final do século XIX. Quando os Estados Unidos proibiram a produção e o comércio de bebidas alcoólicas entre 1920 e 1933, o Canadá passou a ser o principal produtor e os fabricantes de cerveja desenvolveram novas receitas. Depois que a proibição terminou, o modelo tornou-se popular novamente nos Estados Unidos e a produção continua nos dois países hoje.

A cerveja é caracterizada por sua cor amarelo palha a ouro moderado, brilhante e cristalina de muitos reflexos, possuindo com formação baixa ou média, tem um baixo amargor de lúpulo, sendo possível a adição de insumos que dão sabor característico dependendo da marca (BJCP, 2015). Qualquer variedade de lúpulo pode ser utilizada, mas nem eles ou o malte podem predominar. Ésteres discretos podem estar presentes em alguns exemplares, mas não são necessários. Colarinho de baixo a médio e carbonatação de média a alta. Maltosidade e dulçor

de baixo a moderado, variando de acordo com a densidade e atenuação. Nem lúpulo, nem malte prevalecem no paladar. Sabor como o de milho de baixo a moderado proveniente da utilização de adjuntos, bem como algum DMS.

O final pode variar de seco a um dulçor leve de milho, malte ou açúcar. Originalmente conhecida como um ale espumante foram utilizadas algumas cepas de leveduras lager por alguns fabricantes de cerveja, mas historicamente não são misturadas, feitas apenas com cepas ale (LEVTECK, 2020).

Segundo a BJCP (2015) os seguintes parâmetros são esperados na produção da Cream Ale: OG: 1042-1055, FG: 1.006 – 1.012, SRM: 2.5 – 5, IBUs: 8 – 20 e ABV: 4.2 – 5.6%.

3.4. PARÂMETROS DA CERVEJA

3.4.1. Volume de álcool (*ABV*)

O teor alcoólico, também conhecido como Alcohol by Volum (*ABV*), é gerado a partir da conversão de açúcares fermentáveis presentes inicialmente no mosto pela fermentação. A gravidade original (*GO*) menos a gravidade final (*GF*) fornecerá um valor que indica a quantidade de açúcares fermentáveis que foram consumidos (BAMFORTH, 2011). Segundo Parks (2011) o valor médio do *ABV* da maioria das cervejas é entre 4,5% e 5,2%. No entanto existem muitas cervejas no mercado com *ABV* abaixo de 3,5% e outras que podem atingir acima de 12%. Existem técnicas especiais de fermentação que podem produzir cervejas com até 20% de volume de álcool.

3.4.2. Índice de amargor (*IBU*)

O *IBU* (Internacional Bitterness Unit) é o padrão internacionalmente aceito para medir o amargor da cerveja. Segundo Philliskirk (2011) o método foi desenvolvido na década de 60, quando a maioria das cervejarias utilizava lúpulos embalados sem refrigeração, no qual se perdia entre 40 % e 80 % do seu amargor derivado do alfa ácidos. Os valores de *IBU* são uma importante medida de controle da qualidade da cerveja. Os valores de *IBU* fornecem informações sobre a intensidade do amargor da bebida. As cervejas podem variar de 1 a cerca de 100 *IBU*'s. A medição do valor do *IBU* da cerveja requer técnicas laboratoriais complexas, como espectrofotometria ou cromatografia líquida de alta pressão (OLIVER, 2011). Os valores

entre 10 e 15 indicam pouco amargas, acima de 40 IBU é uma cerveja forte e a partir de 60, possui um forte amargor.

3.4.3. Medida de cor (EBC)

A EBC (European Brewing Convention) é o método de avaliação da cor de cervejas utilizado mundialmente. O índice também é utilizado para medir a turbidez da cerveja. Antigamente a cor da cerveja era estimada qualitativamente, comparando os estilos da bebida. O método EBC é quantitativo e envolve medir a cor da amostra de cerveja num espectrofotômetro (KISSMEYER, 2011).

3.4.4 Standard Reference Method (SRM)

É o método de avaliação de cor de mosto ou da cerveja utilizado pela American Society of Brewing Chemists. É medido numa célula de comprimento de percurso de 0,5 polegadas com comprimento de onda de 430 nanômetros. O valor de absorvância resultante é multiplicado por 10 para produzir o valor da cor (OLIVER, 2011).

3.4.5 Intenção de consumo

Kotler e Keller (2006) destacam a cultura, o ambiente social e fatores pessoais e psicológicos, como os principais influenciadores do comportamento de compra. Além do aspecto cultural e social atuando como agentes externos de influência no comportamento do consumidor, Kotler e Keller (2006) destacam também as questões pessoais como valores, estilo de vida, autoimagem, personalidade, ocupação, circunstâncias econômicas, idade e estágio no ciclo de vida. A idade da pessoa estabelece linhas gerais acerca do tipo de produtos e serviços que ela consome regularmente. No caso da cerveja, isto se torna ainda mais claro devido à proibição de consumo para menores de 18 anos. Além disso, há diferentes padrões de consumo de acordo com o estágio da pessoa no ciclo de vida.

4. MATERIAL E MÉTODOS

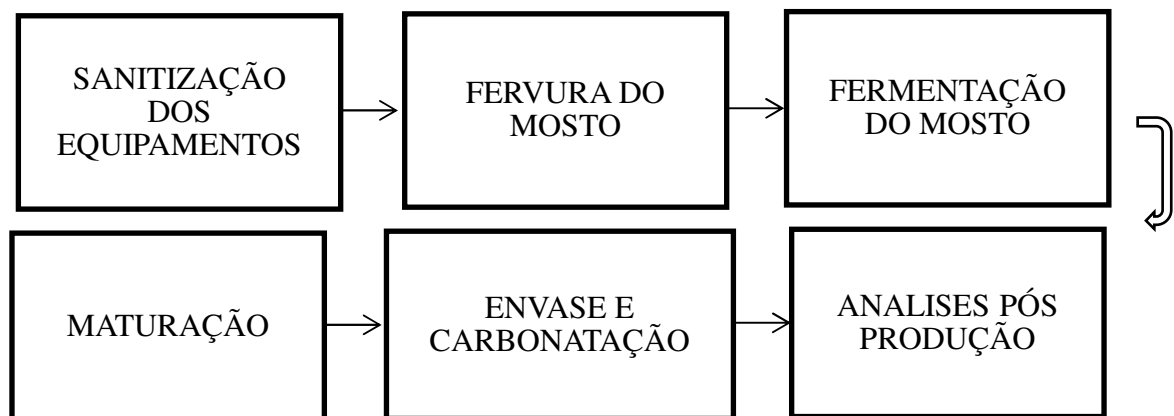
A cerveja foi produzida no Laboratório de Engenharia de Alimentos (UFPA/ITEC/FEA).

4.1. PRODUÇÃO DE CERVEJA

Para a produção da cerveja foi utilizado um kit cervejeiro para 10 L da marca Maltessência (Canoas - RS/Brasil), estilo *Cream Ale*. O kit continha os seguintes itens: Extrato de malte *cream ale* (Uma lata de um quilograma); lúpulo Cascade 4,5% (Cinco grammas; 1ª Adição); lúpulo Cascade 4,5% (Dez grammas; 2ª Adição). Além do kit, foi utilizada a levedura *Torulaspora delbrueckii*, isolada em pesquisas anteriores.

4.1.1 Etapas da produção da cerveja

Figura 9 – Etapas de produção da cerveja



Fonte: Autor.

4.1.2 Sanitização dos equipamentos

O equipamento utilizado durante a fervura e fermentação foi higienizado com sabão líquido e água da torneira. No entanto, na fase final do trabalho, equipamentos como tanque de fermentação, airlock, refrigerador (chiller) e espátulas por entrarem em contato com o mosto frio foram desinfetados com soluções antibacterianas. A solução de Biofor® foi preparada na

concentração recomendada pelo fabricante. O material foi imerso na solução por sessenta minutos, após isso, pôde ser usado sem lavar com água para remover o excesso da substância.

4.1.3 Ativação da levedura

A linhagem de *Torulaspora delbrueckii* utilizada neste trabalho foi cedida pelo Laboratório de Processos Biotecnológicos - LABIOTEC/UFPA. A levedura foi reativada em placas de petri estéreis acrescidas de Ágar YPD (20 g/L Glicose, 20 g/L Peptona bacteriológica, 10 g/L Extrato de Levedura e 20 g/L Agar, pH 5,6), pela técnica de inoculação em superfície.

As placas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica a 30 °C por 72 h. Após o crescimento toda a levedura presente na placa foi coletada com o auxílio de uma alça descartável estéril e transferida para um Erlenmeyers contendo 200 mL de Caldo YPD e posteriormente foi incubado em estufa bacteriológica a 30 °C por 48 h. Este caldo foi utilizado como inóculo.

Para a contagem celular no inóculo preparado foi realizada diluições seriadas até 10^{-6} e inoculadas através da técnica de inoculação em superfície em placas de petri estéreis acrescidas de Ágar YPD. As placas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica a 30 °C por 48 h. Posteriormente, foi realizada a contagem da população de leveduras sendo expressa em Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFC/mL).

4.1.4. Fervura

A fervura aconteceu em recipiente de alumínio, onde aqueceu-se 15 L de água mineral, diretamente na chama a 90 °C. Antes de prosseguir foi reservado 5 L de água para uso futuro. Na água restante (10L) todo o conteúdo do extrato de malte era misturado. Depois de adicionar o extrato, aguardou-se o borbulhamento de ebulição. Ao iniciar, a contagem de sessenta minutos de fervura começou a ser contabilizada. Depois de fervido o mosto por dez minutos, o lúpulo (amargor) foi adicionado pela primeira vez. A segunda adição de lúpulo (aromático) foi feita quinze minutos antes do horário final.

Após sessenta minutos de fervura e desaparecimento da chama, se fez um vórtice, girando o mosto com uma espátula de 48 cm e assim despejando lúpulo e outros compostos no centro. Após isso, iniciou-se o resfriamento do mosto com o *chiller*. Depois de reduzir a temperatura para 25 °C, o mosto foi transportado para o fermentador.

4.1.5. Fermentação

A fermentação ocorreu em um tanque fermentador com capacidade de 10L, sendo previamente sanitizado com solução Biofor[®], assim como, o acessório de liberação de dióxido de carbono *airlock*. Primeiro, houve a oxigenação do mosto movendo o fermentador em círculos algumas vezes. Logo após, a levedura foi inoculada cuidadosamente e uniformemente distribuída na superfície do mosto. O medidor de volume acusou que havia falta de líquido para completar 10L, o volume foi corrigido com a água retida na etapa anterior, depois se lacrou o tanque e o *airlock* então colocado no seu devido local.

A refrigeração do tanque de fermentação ocorreu a 20 °C em um refrigerador com controle de temperatura através de um termostato. Para medir o °Brix foi utilizado um refratômetro portátil. Quando colocado o dispositivo contra a luz, foi possível observar uma linha dividindo as duas áreas (branca e azul) em uma linha, que representa o °Brix da amostra.

A temperatura foi alterada para 25 °C em um período da fermentação quando as leituras °Brix se mantiveram constantes.

4.1.6. Contagem de células viáveis

A contagem das células viáveis ocorreu em condições assépticas em câmara de fluxo laminar a partir das alíquotas retiradas durante a fermentação. Foi realizada diluição seriada em água peptonada até se obter a diluição 10^{-7} . Posteriormente ocorreu o inóculo das diluições 10^{-3} à 10^{-7} por método *pour-plate*) em meio GPY (glicose 2%, extrato de levedura 0,5%, peptona 1% e agar). As placas foram incubadas invertidas a 36 °C por 72 h. Posterior este período, ocorreu a contagem das colônias.

4.1.7. Maturação

A maturação ocorreu no próprio fermentador, alterando a temperatura do refrigerador para 1 °C, no período de nove dias (14 a 22). No dia dezesseis se preparou a solução de clarificação da cerveja, diluindo 1,5 g de gelatina, sem sabor, em 25 mL de água mineral a uma temperatura de 65 °C e adicionando esta solução ao mosto. No dia vinte e dois ao se abrir o fermentador e notar o mosto clarificado a maturação se encerrou.

4.1.8. Envase

A última etapa da produção é a envase da cerveja e seus cuidados para evitar contaminações e o excesso de carbonatação. Primeiro, os frascos (600 mL) foram lavados com sabão líquido e higienizados com solução de Biofor®. Posteriormente, usando a torneira do fermentador, a cerveja foi adicionada às garrafas. A quantidade de açúcar definida para carbonatação foi de 6,6 gramas de açúcar invertido para cada 600 mL de cerveja. As garrafas de cerveja foram adequadamente fechadas com tampas metálicas, exceto por uma garrafa que foi selada com um monômetro, e refrigeradas a 20 °C.

4.2. DETERMINAÇÃO DA COR POR ESPECTROFOTOMETRIA - EBC. (AOAC OFFICIAL METHOD 976.08)

A amostra foi descarbonatada por agitação contínua, filtrada em papel de filtro de membrana de 0,45 µm e, em seguida, a absorbância foi lida a 430 nm usando uma cubeta de 10 mm. Com base nos resultados obtidos a partir da absorbância no comprimento de onda especificado, a cor da cerveja no EBC é determinada pela Equação 1.

$$Cor (EBC) = A \times f \times 50 \quad (1)$$

Onde:

A é a absorbância a 430 nm em uma cubeta de 10 mm

f é o fator de diluição

50 sendo um fator inerente da técnica, para cubetas de 5 mm se usa-se 25.

4.3. DETERMINAÇÃO DAS UNIDADES DE AMARGOR (IBU) (AOAC OFFICIAL METHOD 970.11)

O teor de alfa-ácido na cerveja é determinado por extração com solvente (isooctano) e quantificado em espectrofotômetro. Transferiu-se 10,0 ml de cerveja descarbonizada para um tubo de ensaio, adicionou-se 0,5 ml de HCl (6 mol / L) e 20 ml de isooctano, fechou-se o tubo de ensaio e agitou-se em um agitador rotativo a 130 rpm por 30 minutos. Durante a extração, a absorbância da fase de isooctano foi medida em uma cubeta de 275 nm 10 mm até que a

absorbância ficasse estável. O resultado IBU foi calculado de acordo com a seguinte Equação 2:

$$\text{Amargor (IBU)} = A \times 50 \quad (2)$$

Onde:

A é a absorbância a 275 nm em uma cubeta de 10 mm

50 sendo um fator inerente da técnica, para cubetas de 5 mm se usa-se 25.

4.4. PESQUISA DE INTENÇÃO DE CONSUMO

A coleta de dados se deu através de perguntas utilizando a plataforma GOOGLE FORMS, onde se buscou resposta diretas em um curto questionário, frente aos entrevistados, afim de obter as informações necessárias sobre o assunto pesquisado.

As seguintes perguntas foram enviadas através de E-mails para diversos contatos, obtendo feedback de 160 pessoas:

Qual sua idade?

- 18 – 30
- 31 – 40
- 41 – 50
- 51 - 60
- Acima de 61 anos.

Você tem o costume de consumir ou já experimentou cervejas artesanais?

- Sim
- Não

Uma cerveja fabricada com levedura isolada da microflora da região amazônica despertaria sua atenção??

- Sim
- Não

Até quanto você pagaria para consumir essa cerveja (350 mL)?

- R\$ 5
- R\$ 10
- R\$ 15

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FERMENTATIVO DA LEVEDURA

Buscou-se observar a viabilidade da levedura *Torulospora dellbruelkii* de fermentar o mosto, por tratar-se de uma levedura pouco utilizada na produção cervejeira e ser um microrganismo selvagem extraído das amêndoas de cacau.

5.2. CARACTERIZAÇÕES DA LEVEDURA *TORULOSPORA DELLBRUELKII*.

A rapidez na qual um microrganismo fermenta o mosto é muito importante para os cervejeiros, pois a produtividade aumenta quando em um menor tempo de trabalho uma maior quantidade de cerveja pode ser produzida.

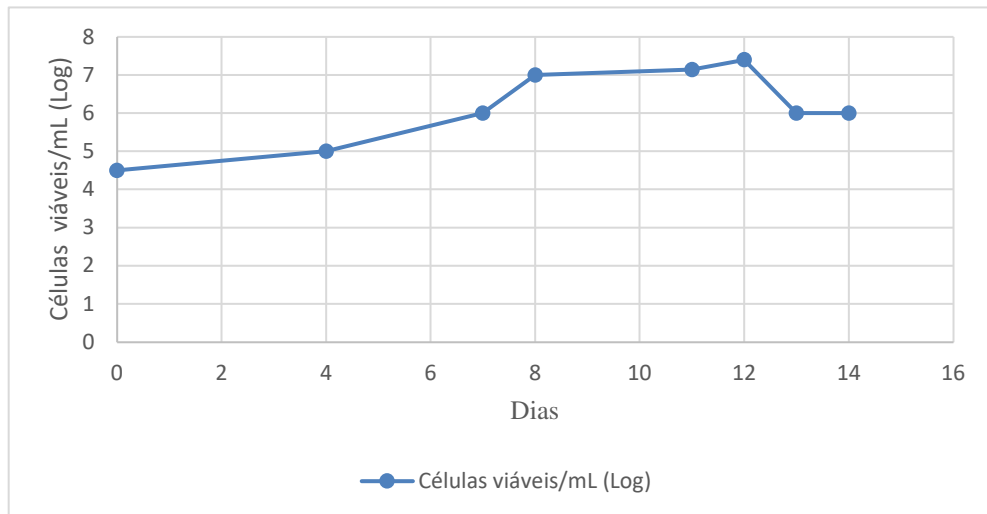
A fermentação obtida com *Torulospora delbrueckii* se destacou negativamente, com uma longa fase lag, valor indesejado em uma fermentação de mostos, uma vez que outros microrganismos podem intervir, consumindo nutrientes e produzindo compostos indesejados (CIANI e PEPE, 2002). Em trabalhos anteriores foi constatado que ensaios onde a *Torulospora delbrueckii* foi conduzida isoladamente tiveram uma cinética fermentativa mais lenta (BELDA et al., 2015).

Tabela 6 - Resultado das variáveis da fermentação.

Dia	°Brix	Células viáveis/ml	Células viáveis/ml (log)	Temperatura °C
01	9,9	3,1x10 ⁴	4,5	20
04	8,0	5,1x10 ⁴	4,7	20
07	8,0	3,9x10 ⁵	5,6	20
08	7,5	7,2x10 ⁶	6,9	25
11	6,0	1,4x10 ⁷	7,1	25
12	4,9	2,8x10 ⁷	7,4	20
13	4,8	8,5x10 ⁷	5,9	20
14	4,3	8,5x10 ⁷	5,9	20

Fonte: Elaboração própria (2020)

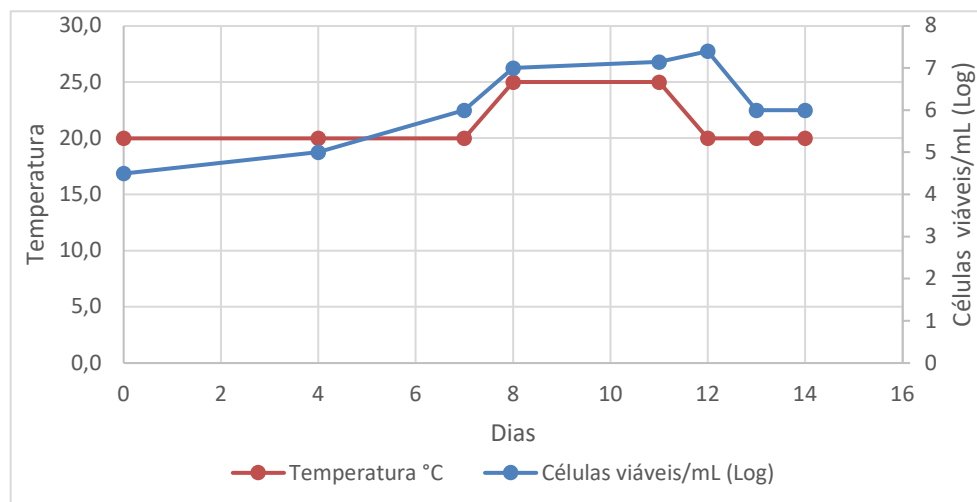
Figura 10 - Representação das fases de crescimento da levedura.



Fonte: Elaboração própria (2020).

O teste realizado para diferenciar uma levedura Ale de uma Lager mostrou que a levedura isolada tem um melhor crescimento na temperatura mais elevada, 25 °C, do que na temperatura mais baixa, de 20 °C. De acordo com a **Tabela 6** em 24 horas, a 25 °C, obteve-se $7,2 \times 10^6$ células de leveduras, enquanto a 20 °C no dia anterior, apenas $3,2 \times 10^5$ células de leveduras estavam presentes no mosto. Isto indica uma grande possibilidade de a levedura ser do tipo ale, que cresce preferencialmente a altas temperaturas.

Figura 11 - Relação entre temperatura e o crescimento celular da levedura.



A levedura obteve seu melhor desempenho no consumo de açúcares durante o período em que a temperatura esteve elevada, após voltar aos 20 °C o número de células caiu repetidamente, Figura 11. As leveduras isoladas de ambientes naturais são em sua maioria do

tipo Ale, apenas recentemente uma levedura isolada de ambiente natural foi caracterizada como uma levedura Lager (LIBKIND et al., 2011).

O teor de etanol diz muito a respeito da eficiência metabólica da levedura. Com os valores finais e iniciais do °Brix foi possível estimar o teor alcoólico, ou ABV, convertendo o valor de °Brix inicial e final para gravidade específica por meio da Equação (3).

$$Densidade = \left(\frac{Brix}{258.6 - \left(\frac{Brix}{258.2}\right) * 227.1} \right) + 1 \quad (3)$$

O resultado obtido da densidade original e densidade final, a partir destes valores foram possíveis obter o ABV% através da Equação (4):

$$\%ABV = 131,25 * (OG - FG) \quad (4)$$

Tabela 7 - Teor alcoólico nos dias decorridos da fermentação.

Dia	ABV%
1	0,0
4	0,8
7	0,8
8	1,0
11	1,8
12	2,3
13	2,4
14	2,7

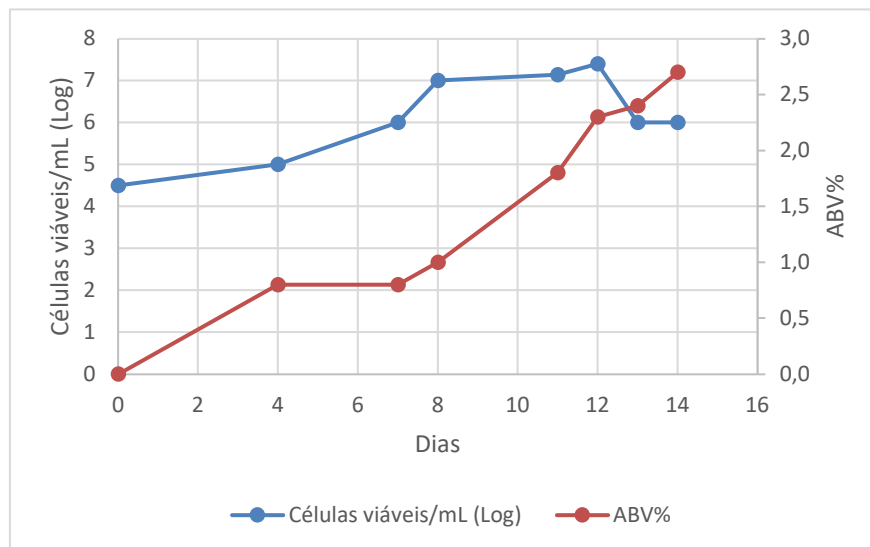
O baixo teor alcoólico pode ser explicado pelo fato que cada levedura atenua açúcares de maneira característica. As leveduras tipo *ale*, por exemplo, não são capazes de metabolizar a melibiose (glicose-galactose) e utilizam a maltotriose de maneira não eficiente (DEÁK, 2007). A *Torulospora dellbruelkii* por ser isolada em um ambiente selvagem tem uma tendência a fermentar açúcares específicos no seu habitat, não sendo domesticada como as leveduras comerciais para metabolizar um espectro maior de açúcares cervejeiros.

Michel et al. (2016) investigaram dez cepas de *Torulaspora delbrueckii* para sua aplicação na fabricação de cerveja. Entre as dez cepas, nove exibiram baixa capacidade de produção de álcool devido à sua incapacidade de utilizar maltose. Em fermentações experimentais de dois litros em mosto de 12 °Brix (a partir de extrato de malte de cevada) a 27 °C, as cervejas finais exibiram um teor de etanol de 0,83 % a 0,94 % c.

Canónico et al. (2016) investigaram o uso de cepas de *T. delbrueckii* em fermentações de culturas mistas com levedura de cerveja de *S. cerevisiae* para aromas e redução do teor de álcool. Em uma pré-seleção de 28 *T. delbrueckii*, 20 não exibiram utilização de maltose. Uma cepa positiva para maltose foi selecionada para investigação adicional em fermentações de culturas mistas. No entanto, fermentações de cultura única foram também realizados em 12,7 °Brix e 12,3 °Brix em todos os tipos de malte de cevada, respectivamente. Em fermentações de cultura única, foram alcançados teores de etanol de apenas 2,66% e 2,62% de ABV devido à utilização parcial, e não total, da maltose.

A deficiência na capacidade de metabolizar açúcares não é ruim no ponto de vista sensorial. Esses açúcares residuais ficam presentes na cerveja, fazendo parte do complexo conjunto que gera o sabor e aroma característico de estilos de cervejas. Outra hipótese levantada foi a de que a atividade da levedura estava sofrendo uma inibição pelo etanol ou por algum metabólito secundário formado. Esse efeito é diferente do que pode ser observado na figura 12, pois durante o experimento a concentração de células viáveis e ABV% atingiram consistência conjugada de crescimento exponencial. Sendo assim, a hipótese de inibição foi descartada.

Figura 12 - Relação entre células viáveis e teor alcoólico do mosto



5.3. PARÂMETROS CERVEJEIROS

A comprovar a capacidade fermentativa da levedura se entra na discussão dos parâmetros do estilo de cerveja escolhido para o trabalho. Em relação à porcentagem de ABV a levedura apresentou baixo teor alcoólico. A análise foi feita com base nos parâmetros da fabricante do extrato de malte Cream Ale, a Tabela 8 apresenta dados experimentais espectrométricos comparados com os esperados de acordo a fabricante:

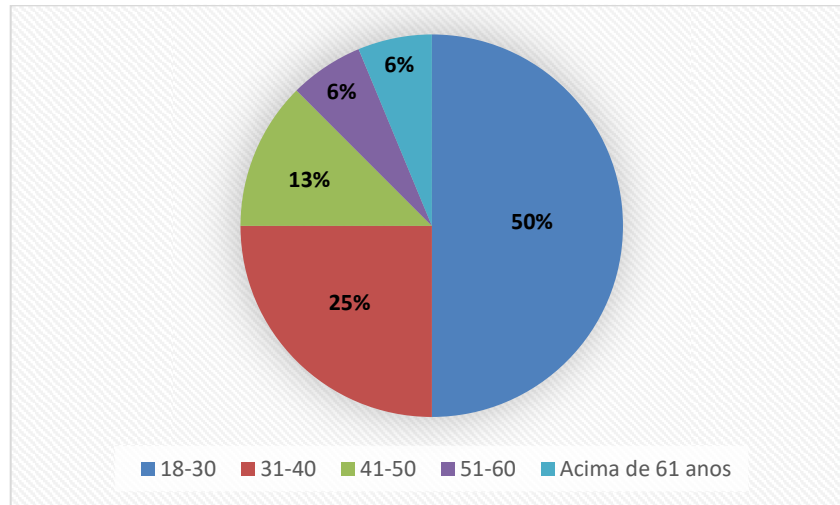
Tabela 8 - Resultados esperados de acordo com a fabricante do extrato de malte.

Parâmetros	BJCP	Experimental
ABV %	4,2 – 5,6	2,7
SRM	2,5 - 5	3,8
EBC	5,0 – 10,0	7,6
IBU	8,0 – 20,0	16,8

5.4. INTENÇÃO DE CONSUMO

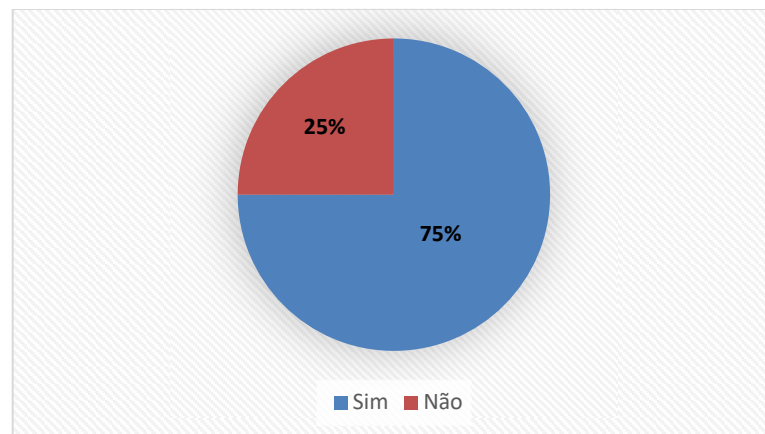
Ao se perguntar a idade dos participantes da pesquisa o resultado foi bastante heterogêneo, apesar da maioria dos participantes ter idade na faixa de 18 – 30 anos. No entanto, esse número já era esperado devido a pesquisa ter sido disparada para o círculo social do entrevistador.

Figura 13 - Índice percentual das idades dos participantes.



Ao serem questionados se consumiam ou já experimentaram cervejas artesanais, o resultado foi bastante satisfatório. Pois, a pesquisa atingiu o público esperado para os questionamentos principais do levantamento.

Figura 14 - Índice percentual do consumo de cervejas artesanais.



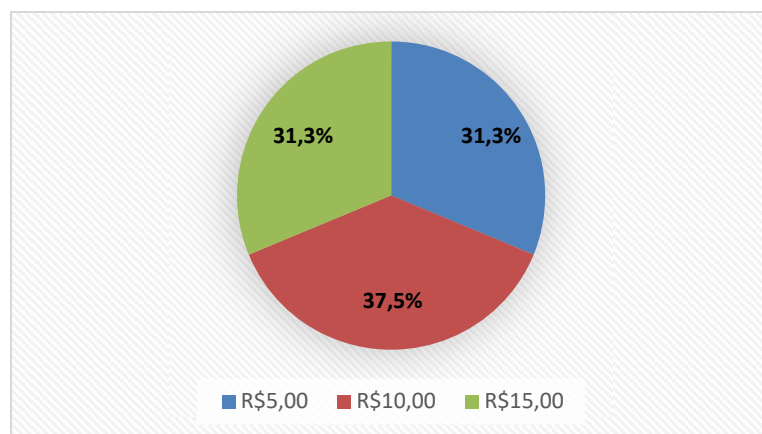
Os 160 participantes foram unânimes nas respostas do interesse e curiosidade diante de uma cerveja fabricada com uma levedura isolada da microflora amazônica. Resultado este que evidencia o potencial espontâneo de produtos amazônicos.

Figura 15 - Índice percentual do interesse de consumir uma cerveja com levedura amazônica.



Quando questionados do valor no qual estariam dispostos a pagar diante de uma cerveja de 350 mL, o resultado foi equilibrado. Contudo, a disposição da maioria em consumir a cerveja no valor de R\$ 10,00 sugere uma tendência no qual as pessoas pagariam um valor bem acima deste, algo que poderá ser alcançado usando ferramentas de marketing.

Figura 16 - Índice percentual da disposição de pagar um certo valor na cerveja fabrica com levedura amazônica



6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível avaliar a viabilidade da levedura *Torulospora dellbruelkii* de fermentar o mosto. Em relação ao parâmetro temperatura a levedura apresentou o melhor crescimento em temperaturas mais elevadas (25 °C) dessa forma a levedura poderia ser classificada como sendo do tipo *ale*. Quanto ao consumo de açúcares, a levedura também obteve melhor resultado quando a temperatura esteve elevada, a partir desses dois resultados conclui-se que a levedura desempenha boa atividade diante de altas temperaturas. Em relação ao teor alcoólico, por tratar-se de uma levedura não domesticada, apresentou baixo teor alcoólico, fato esse que não anula o possível uso da levedura, tendo em vista que há uma variedade de cervejas com diferentes concentrações de álcool em sua composição, o que torna a utilização da *Torulospora dellbruelkii* algo a ser estudado com maior precisão, uma possibilidade para se obter uma cerveja de maior teor alcoólico é a cofermentação com leveduras comerciais. Conclui-se que a levedura possui considerável potencial para a aplicação na produção de cerveja e a pesquisa de intensão consumo indicou uma tendência favorável para sua exploração comercial.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. Tecnologia de Bebidas. São Paulo: Edgard Blucher, 2005.

ABDALLA, K. V. P. et al. Avaliação da dureza e das concentrações de cálcio e magnésio em águas subterrâneas da zona urbana e rural do município de Rosário-MA. In: XVI Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas e XVII Encontro Nacional de Perfuradores de Poços. Revista Águas Subterrâneas, 2010.

ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. Ciênc. Tecnol. Alim., v.23, n.2, p. 121-128, 2003.

AQUARONE, E. et al. Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos. v4 São Paulo: Edgard Blucher, 2005.

Azzolini, M., Tosi, E., Lorenzini, M., Finato, F., and Zapparoli, G. (2015). Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspora delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae*. World J. Microbiol. Biotechnol. 31, 277–293. doi: 10.1007/s11274-014-1774-1

BARROS, Emmanuel Uchoa Lira. Estudo de crescimento de levedura usada na produção da belgian pale ale da cervejaria philipeia, 2018.

BASSO, Rafael Felipe. Caracterização de leveduras não convencionais para produção de cervejas. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2019.

BAMFORTH, Charles W., Wash. In: OLIVER, Garret, The oxford Companion to Beer. 1 ed. USA: Oxford University Press, 2011.

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

BRASIL. Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A cerveja no Brasil. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 166 de 12 de abril de 1977. Padronização, classificação e comercialização do Malte cervejeiro ou Cevada malteada para fins cervejeiros.

BGBL. Teil 1 Das vorläufige Biersteuergesetz. Disponível em: http://www.bgbl.de/xaver/bgbl/start.xav?startbk=Bundesanzeiger_BGBI&jumpTo=bgbl193s1422.pdf. Acesso em: 3 jun. 2020.

Benito, S.; Hofmann, T.; Laier, M.; Lochbühler, B.; Schüttler, A.; Ebert, K.; Fritsch, S.; Röcker, J.; Rauhut, D. Effect on quality and composition of Riesling wines fermented by sequential inoculation with non-Saccharomyces and Saccharomyces cerevisiae. Eur. Food Res. Technol. p. 241, 707–717, 2015.

BRESSIANI, Carlo Enrico. 'O crescimento de 39,6% no número de cervejarias em 2016 é espetacular', 2017. Disponível em: <<http://blogs.oglobo.globo.com/aqui-se-bebe/post/artigo-o-crescimento-de-396-no-numero-de-cervejarias-em-2016-e-espetacular.html>>. Acesso: 10/03/2021

Briggs DE, Boulton CA, Brookes PA, Stevens RC. Brewing science and practice. London: CRC Press. p 900, 2004.

BONACCORSI, M. Guia de estilos de cervejas. Beer Judge Certification Program, 2015. Disponível em: <<http://www.brauakademie.com.br/assets/bjcp-2015-beer-pt-br.pdf>>. Acesso em: 15/01/21.

BOAN, Martin; COLLINI, Diego; PEREZ, Carolina; SENAI: TECNOLOGIA CERVEJEIRA. 1. ed. Rio de Janeiro: SENAI, p. 1-274, 2014.

BOZA, Y., HORII, J. Influência do grau alcoólico e da acidez do destilado sobre o teor de cobre na aguardente. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.20, n.3, p.279-284, set./dez 2000. ISSN 0101-2061.

Budroni, M.; Zara, G.; Ciani, M.; Comitini, F. Saccharomyces and non-Saccharomyces starter yeast. In *Brewing Technology*; Kanauchi, M., Ed.; INTECH: Rijeka, Croatia, p. 81–100, 2017.

BGBL.Teil.1.Das.vorläufi.ge.Biersteuergesetz...Disponível em: http://www.bgbl.de/xaver/bgbl/start.xav?startbk=Bundesanzeiger_BGBI&jumpTo=bgbl193s1422.pdf..Acesso em: 3.jun..2020.

Canonico, L.; Agarbati, A.; Comitini, F.; Ciani, M. *Torulaspora delbrueckii* in the Brewing Process: A New Approach to Enhance Bioflavour and to Reduce Ethanol Content. *Food Microbiol.* 2016, 56, 45–51. DOI: 10.1016/j.fm.2015.12.005.

CIANI, Maurizio; PEPE, Vincenzo. The influence of pre-fermentative practices on the dominance of inoculated yeast starter under industrial conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 82, n. 5, p. 573-578, 2002.

CREAM ALE. [S. l.], 13 mar. 2019. Disponível em:

<<https://centralbrew.com.br/dme-cream-ale-10-1>>. Acesso em: 9 set. 2020.

CEPPI, E.L. M.; Brenna, O. V. Brewing with rice malt: a gluten-free alternative. *Journal of the Institute of Brewing*, v. 116, n. 3, p. 275-279, 2010.

COSTA, Ricardo Henrik Kinouti. *Produção de cerveja com baixo teor alcoólico*. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DEAK, Tibor. *Handbook of food spoilage yeasts*. CRC press, 2007.

DURELLO, Renato S.; SILVA, Lucas M.; BOGUSZ JR, Stanislaw. Química do Lúpulo. *Química Nova*, v. 42, n. 8, p. 900-919, 2019.

GIORGI, V. DE V. “Cultos em cerveja”: discursos sobre a cerveja artesanal no Brasil. *Soc. e Cult.*, Goiânia, v. 18, n. 1, p. 101-111, jan./jun. 2015.

González-Royo, E., Pascual, O., Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Esteve-Zarzoso, B., Mas, A., et al. (2014). Oenological consequences of sequential inoculation with non-Saccharomyces yeasts (*Torulasporea delbrueckii* or *Metschnikowia pulcherrima*) and *Saccharomyces cerevisiae* in base wine for sparkling wine production. *Eur. Food Res. Technol.* 240, 999–1012. doi: 10.1007/s00217-014-2404-8

HELD, P. Monitoring Growth of Beer Brewing Strains of *Saccharomyces Cerevisiae*. 2010. Disponível em: <<http://www.biotek.com/resources/articles/beer-brewing-synergyh1-yeast-growth.html>> Acesso em: 10 jun. 2020

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

HUGHES, P. S.; BAXTER, E. D. Beer-quality, safety and nutritional aspects. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry. Cap. 5: Nutricional Aspects of Beer. 2014.

Kunze, W. *Technolog of brewing and malting* (4th International English Edition), The research and teaching institute for brewing in Berlin (VLB) VLB's Publishing Department, Berlin. 2010.

LIBKIND, Diego et al. “Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 108, n. 35, p. 14539-14544, 2011.

Matos, Ricardo. (2011). *Cerveja: panorama do mercado, produção artesanal, e avaliação de aceitação e preferência..*

Malowicki, Mark G, and Thomas H Shellhammer. “Isomerization and degradation kinetics of hop (*Humulus lupulus*) acids in a model wort-boiling system” *Journal of agricultural and food chemistry* v. 53. 2005.

MEUSSDOERFFER, F. G. A comprehensive history of beer brewing. In: Esslinger, H.M (Ed.), Handbook of Brewing. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, 2009.

Michel, M.; Kopecka, J.; Meier-Dornberg, T.; Zarnkow, M.; Jacob, F.; Hutzler, M. Screening for New Brewing Yeasts in the non- *Saccharomyces* Sector with *Torulaspora delbrueckii* as Model. *Yeast* 2016, 33, 129–144. DOI: 10.1002/yea.3146.

MORADO, R. Larousse da Cerveja. Larousse do Brasil. 1 ed, São Paulo, 2011

MOURA, Bianca Flach de. Análise da influência da distribuição granulométrica do malte na obtenção de extrato no mosto cervejeiro. 2018.

OLIVER, Garret., The oxford Companion to Beer. 1 ed. USA: Oxford University Press, 2011.

Okada Y, Ito K. 2001. Cloning and analysis of valerophenone synthase gene expressed specifically in lupulin gland of hop (*Humulus lupulus* L.). *Biosci Biotech Bioch.*

O QUE É CERVEJA. [S. l.], 10 set. 2018. Disponível em:

< <https://www.brejas.com.br/cerveja.shtml> >. Acesso em: 11 set. 2020.

Palmer, G. H. Barley and Malt. In: PRIEST, F. G; STEWART, G. G. Handbook of Brewing. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, Cap. 5, p. 139-159, 2006.

PALMER, G.H. Barley and Malt. In: PRIEST, F.G.; STEWART, G.G. Handbook of Brewing. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

PAYÁ, Ana Laura et al. Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de aveia (*Avena sativa*). *Revista Engenharia em Ação UniToledo*, v. 4, n. 2, 2019.

POLAINA, Julio. Brewer's Yeast: Genetics and Biotechnology. *Agriculture and Food Production*, [S. l.], v. 2, p. 1-11, 6 fev. 2002.

PHILLISKIRK, George. Fennentation. In: OLIVER, Garret, The oxford Companion to Beer. 1 ed. USA: Oxford University Press, 2011.

KOTLER, Philip; KELLER, Kevin Lane. Administração de marketing. 12. ed. São Paulo: Pearson, 2006.

ROSA, Natasha Aguiar; AFONSO, Júlio Carlos. A química da cerveja. Revista Química Nova. São Paulo, v. 37, p. 98-105, 2015.

SILVA, Paulo Henrique Alves da; FARIA, Fernanda Carolina de. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas (SP), v. 28, n. 4, p. 902-906, out./dez. 2008.

SUHRE, T. Controle de qualidade em microcervejarias: avaliação da viabilidade, vitalidade e contaminantes em leveduras cervejeiras. 2014.48p. Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

TELES, Juliana Andrade et al. Estudo da produção de mosto concentrado lupulado a partir de extrato de malte concentrado, xarope de alta maltose e lúpulo. 2007.

VENTURINI FILHO, W.G. Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia. São Paulo: Editora Blucher, vl, p 14-50, 2010.

Verzele, M. 100 YEARS OF HOP CHEMISTRY AND ITS RELEVANCE TO BREWING. Journal of the Institute of Brewing, 92: 32-48. 1986.

KISSMEYER, Anders B., EBC. In: OLIVER, Garret, The oxford Companion to Beer. 1 ed. USA: Oxford University Press, 2011

WHITE, C.; ZAINSHEFF, J. Yeast: the practical guide to beer fermentation. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2010.

YOKOYA, F. Fabricação da cachaça de cana. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1995. 92p.

ZUPPARDO, B. Uso de goma Oenogum para estabilização coloidal e de espuma em cerveja. Universidade de São Paulo, Piracicaba 2010.

