



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

GUILHERME LORENCINI SCHUINA

UTILIZAÇÃO DE PLANTAS AMARGAS EM SUBSTITUIÇÃO AO
LÚPULO NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL TIPO
AMERICAN LAGER

São José do Rio Preto – SP
2018

GUILHERME LORENCINI SCHUINA

UTILIZAÇÃO DE PLANTAS AMARGAS EM SUBSTITUÇÃO AO
LÚPULO NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL TIPO
AMERICAN LAGER

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, Campus de São José do Rio Preto, como pré-requisito para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi

São José do Rio Preto – SP

2018

Schuina, Guilherme Lorencini.

Utilização de plantas amargas em substituição ao lúpulo na produção de cerveja artesanal tipo american lager / Guilherme Lorencini Schuina . -- São José do Rio Preto, 2018
124 f. : il., tabs.

Orientador: Vanildo Luiz Del Bianchi

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Cerveja. 3. Bebidas fermentadas. 4. Carqueja. 5. Quina. 6. Alcachofra. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 663.4

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

GUILHERME LORENCINI SCHUINA

UTILIZAÇÃO DE PLANTAS AMARGAS EM SUBSTITUIÇÃO
AO LÚPULO NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL
TIPO AMERICAN LAGER

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, Campus de São José do Rio Preto, como pré-requisito para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi
Unesp – São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Vitor Manfroi
UFRGS – Porto Alegre

Prof^a. Dr^a. Raquel Vieira de Carvalho
UFES – Alegre

Prof. Dr. Crispin Humberto Garcia Cruz
Unesp – São José do Rio Preto

Dr^a. Iasnaia Maria de Carvalho Tavares
Unesp – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto – SP
20 de abril de 2018

Dedico este trabalho a minha família, pelo apoio e dedicação sempre prestados em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por meio de quem alcançamos todos os momentos vividos, as amizades conquistadas e vitórias alcançadas ao longo deste período.

À Ingrid e ao Gabriel, por toda força, compreensão e amor em todos os momentos.

Aos meus familiares, principalmente à minha mãe; ao meu pai e ao meu irmão, pelo amor, carinho e por todo apoio que me deram ao longo desta caminhada.

A todos os amigos, sempre muito importantes durante esta trajetória, em especial aos amigos do Laboratório de Bioprocessos.

Ao Professor Vanildo, pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos, pela amizade, pela paciência pelas oportunidades dadas ao longo da realização deste trabalho.

À Professora Ana Carolina Conti e Silva, pela ajuda prestada na análise sensorial. Ao professor Giovanni Brandão Mafra de Carvalho, pela coorientação.

Aos professores membros da banca examinadora, pelas contribuições e correções feitas neste trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos passados e pelo convívio.

À Unesp e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, pela oportunidade de realizar este curso. À CAPES pela bolsa.

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

Obrigado!

Resumo

A cerveja é um produto fermentado composto basicamente por malte de cevada, água, lúpulo e adjuntos sob ação de micro-organismos apropriados. O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta trepadeira pertencente à família *Cannabaceae*. Sua área de cultivo é restrita a duas faixas: uma no hemisfério sul e outra no hemisfério norte (entre os paralelos 35° e 55°), sendo difícil sua produção em diversos países, como no Brasil, por exemplo. Com isso, o intuito deste trabalho foi avaliar a possibilidade de utilização de diferentes plantas amargas em substituição ao lúpulo na produção de cerveja *american lager* artesanal. Foi avaliado o uso de carqueja, quina, pau tenente, guatambu e alcachofra como substituintes de lúpulo, foram elaboradas cervejas contendo cinco concentrações de cada planta amarga. As cervejas foram avaliadas físico-quimicamente (extrato aparente, extrato original, teor alcoólico, pH, cor, turbidez, atenuação aparente e amargor) e sensorialmente (aceitação, intensidade de amargor, ideal de intensidade de amargor e intenção de compra). As cervejas, de cada formulação, com concentração mais bem avaliadas foram comparadas entre si por meio de análises físico-químicas, aceitação e descrição sensorial. Pode-se perceber que a substituição do lúpulo por diferentes plantas amargas não causou prejuízo às características físico-químicas da cerveja, obtendo-se padrões próximos quando da produção apenas com o lúpulo e semelhante aos descritos na literatura. Sensorialmente, deve-se atentar a concentração dos substituintes, pois altas concentrações tendem a causar rejeição sensorial das amostras. Portanto, a substituição do lúpulo por diferentes plantas amargas é viável, sendo que a carqueja foi a que apresentou melhor potencial de utilização.

Palavras-chave: Amargor. Quina. Carqueja. Pau tenente. Guatambu. Alcachofra.

Abstract

Beer is a fermented product made of barley malt, water, hops and adjuncts under the action of appropriate microorganisms. Hops is a climbing plant belonging to the family Cannabaceaea. The cultivation is restricted to two areas: one in the southern hemisphere and another in the northern hemisphere (between the 35th and 55th parallels), being difficult to produce in many countries, as in Brazil, for example. The purpose of this work was to evaluate the use of different bitter plants as hops substitutes in American lager craft beer production. For this, the use of carqueja, quina, pau tenente, guatambu and artichoke as hops substitute was evaluated, and beers containing five concentrations of each bitter plant were made. The beers were physico-chemically evaluated (original gravity, final gravity, alcohol content, pH, color, turbidity, apparent attenuation and bitterness) and sensoriality (acceptance, ideal bitterness, ideal bitterness intensity and purchase intention). The better evaluated beer concentration of each plant were compared by physical-chemical analyzes, sensorial acceptance and sensorial description. The substitution of hops by different bitter plants did not affect the physico-chemical characteristics of the beer, obtaining values close to the beer using only hops and similar to the described in the literature. Sensorially, attention should be paid to the concentration of the substituents, since high concentrations may cause sensorial rejection of the samples. We can conclude that the replacement of hops by different bitter plants is viable, and the carqueja was the one that presented the best potential of use.

Keywords: Bitterness. Quina. Carqueja. Pau tenente. Guatambu. Artichoke.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CEVADA DE 6 FILEIRAS E CEVADA DE 2 FILEIRAS.	19
FIGURA 2 - ESTRUTURA DO GRÃO DE CEVADA	20
FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO DA FLOR FEMININA DO LÚPULO.	27
FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS A-ÁCIDOS E INDUÇÃO TÉRMICA QUE OCORRE DURANTE A FERVURA DO MOSTO.....	28
FIGURA 5 - FLUXOGRAMA DA FABRICAÇÃO DE CERVEJA.....	31
FIGURA 6 – MOINHO DE MARTELO (A), ROLO (B) E DISCO (C).....	32
FIGURA 7 – CURVA DE MOSTURAÇÃO POR INFUSÃO MÚLTIPLA.	33
FIGURA 8 - CURVA DE MOSTURAÇÃO POR DECOCCÃO.....	34
FIGURA 9 – GELATINIZAÇÃO E SACARIFICAÇÃO DO AMIDO DURANTE A MOSTURAÇÃO.....	35
FIGURA 10 – TEMPERATURA DE GELATINIZAÇÃO DE ALGUNS AMIDOS EM RELAÇÃO A TEMPERATURA DE MOSTURAÇÃO.	36
FIGURA 11 – ATUAÇÃO DE A – AMILASE E B – AMILASE NA CADEIA DE AMILOPECTINA.	36
FIGURA 12 – ISOMERIZAÇÃO DAS HUMULONAS PARA PRODUÇÃO DOS ISO-A-ACIDOS NO MOSTO	40
FIGURA 13– CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO DE CERVEJA	43
FIGURA 14 – ALTERAÇÕES NO NÍVEL DE ÁLCOOIS SUPERIORES E ÉSTERES AO LONGO DA FERMENTAÇÃO DE ALE (A) E LAGER (B).....	44
FIGURA 15 – FLUXOGRAMA DA FABRICAÇÃO DA CERVEJA.....	57
FIGURA 16 - CURVA DE MOSTURAÇÃO UTILIZADA NO EXPERIMENTO.....	58
FIGURA 17 - FICHA UTILIZADA NOS TESTES DE ACEITAÇÃO SENSORIAL	61
FIGURA 18 - FICHA UTILIZADA NOS TESTES DE PERFIL DESCRITIVO OTIMIZADO ...	64
FIGURA 19 – DENDOGRAMA RESULTANTE DA ANÁLISE DE CLUSTER PARA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS DE CERVEJA UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA	76
FIGURA 20 – MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO PARA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS CERVEJAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA EM SUBSTITUIÇÃO AO LÚPULO.	77

FIGURA 21 – DENDOGRAMA RESULTANTE DA ANÁLISE DE CLUSTER PARA O AROMA DAS AMOSTRAS DE CERVEJA UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA	78
FIGURA 22 – MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO PARA O AROMA DAS CERVEJAS UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA	78
FIGURA 23 – DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA PARA INTENSIDADE DE AMARGOR IDEAL DAS CERVEJAS UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA	80
FIGURA 24 – DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA PARA INTENÇÃO DE COMPRA DAS CERVEJAS UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA EM SUBSTITUIÇÃO AO LÚPULO.	81
FIGURA 25 – DENDOGRAMA E MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO PARA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALCACHOFRA.	85
FIGURA 26 - DENDOGRAMA E MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO PARA O AROMA DAS AMOSTRAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALCACHOFRA	85
FIGURA 27 - DENDOGRAMA PARA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE QUINA	89
FIGURA 28 - MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO PARA AMOSTRAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE QUINA.	90
FIGURA 29 - DENDOGRAMA DA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PAU TENENTE (A) E GUATAMBU (B)	94
FIGURA 30- MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO DA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PAU TENENTE (A) E GUATAMBU (B).....	95
FIGURA 31 - DENDOGRAMA DA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS CONTENDO DIFERENTES SUBSTITUINTES DE LÚPULO.....	99
FIGURA 32 - MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO DA ACEITAÇÃO GLOBAL DAS AMOSTRAS CONTENDO DIFERENTES SUBSTITUINTES DE LÚPULO	99
FIGURA 33 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS DO PERFIL DESCRITIVO OTIMIZADO.....	105

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – TIPOS DE MALTE, CLASSIFICAÇÃO E UTILIZAÇÃO	23
TABELA 2 – MINERAIS ENCONTRADOS NA ÁGUA E SUA CONTRIBUIÇÃO À CERVEJA	25
TABELA 3– LISTA DOS TERMOS DESCRITIVOS E RESPECTIVAS REFERENCIAS	63
TABELA 4– TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS DIFERENTES EXTRATOS AQUOSOS.....	66
TABELA 5 – CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DAS INFUSÕES DAS PLANTAS AMARGAS FRENTE A DIFERENTES MICRO-ORGANISMOS.....	68
TABELA 6 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA	69
TABELA 7 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALCACHOFRA	69
TABELA 8 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE QUINA	70
TABELA 9 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GUATAMBU	70
TABELA 10 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PAU TENENTE	71
TABELA 11 - ACEITAÇÃO SENSORIAL DAS CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA.....	75
TABELA 12 - INTENÇÃO DE COMPRA, INTENSIDADE DE AMARGOR E IDEAL DE INTENSIDADE DE AMARGOR PARA CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CARQUEJA.....	79
TABELA 13 - ACEITAÇÃO SENSORIAL DAS CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALCACHOFRA.....	83
TABELA 14 - INTENÇÃO DE COMPRA, INTENSIDADE DE AMARGOR E IDEAL DE INTENSIDADE DE AMARGOR PARA CERVEJAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALCACHOFRA	86
TABELA 15 - ACEITAÇÃO SENSORIAL DAS CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE QUINA.	87

TABELA 16 - INTENÇÃO DE COMPRA, INTENSIDADE DE AMARGOR E IDEAL DE INTENSIDADE DE AMARGOR PARA CERVEJAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE QUINA	88
TABELA 17 - ACEITAÇÃO SENSORIAL DAS CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PAU-TENENTE	92
TABELA 18 - ACEITAÇÃO SENSORIAL DAS CERVEJAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GUATAMBU.....	92
TABELA 19 - INTENÇÃO DE COMPRA, INTENSIDADE DE AMARGOR E IDEAL DE INTENSIDADE DE AMARGOR PARA CERVEJAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PAU TENENTE	93
TABELA 20 - INTENÇÃO DE COMPRA, INTENSIDADE DE AMARGOR E IDEAL DE INTENSIDADE DE AMARGOR PARA CERVEJAS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GUATAMBU	93
TABELA 21 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS COM DIFERENTES SUBSTITUINTES DE LUPULO	97
TABELA 22 - ACEITAÇÃO SENSORIAL DAS CERVEJAS.COM DIFERENTES SUBSTUINTES DE LÚPULO	100
TABELA 23 - INTENÇÃO DE COMPRA, INTENSIDADE DE AMARGOR E IDEAL DE INTENSIDADE DE AMARGOR PARA CERVEJAS COM DIFERENTES SUBSTITUINTES DE LUPULO	101
TABELA 24 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA OS ATRIBUTOS SENSORIAIS AVALIADOS	102
TABELA 25 – NOTAS MÉDIAS DOS ATRIBUTOS SENSORIAIS AVALIADOS NO PERFIL DESCRITIVO OTIMIZADO	103

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	OBJETIVO	17
2.1.	Objetivo Geral.....	17
2.2.	Objetivos Específicos.....	17
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1.	Matérias Primas.....	19
3.1.1.	Cevada	19
3.1.1.1.	Maltagem.....	21
3.1.2.	Adjunto	23
3.1.3.	Água	24
3.1.4.	Levedura	26
3.1.5.	Lúpulo.....	27
3.2.	Tipos de cerveja	29
3.3.	Processamento.....	31
3.3.1.	Moagem.....	31
3.3.2.	Mosturação	33
3.3.3.	Filtração.....	37
3.3.4.	Fervura.....	38
3.3.5.	<i>Whirlpool</i> e resfriamento.....	41
3.3.6.	Fermentação	41
3.3.7.	Maturação.....	45
3.3.8.	Clarificação.....	46
3.3.9.	Carbonatação	47
3.3.10.	Pasteurização	48
3.3.11.	Envase.....	49
3.4.	Avaliação e controle de qualidade da cerveja	49
3.5.	Alternativas ao lúpulo	51
3.5.1.	Carqueja.....	52
3.5.2.	Alcachofra	52
3.5.3.	Quina	53

3.5.4.	Pau tenente.....	53
3.5.5.	Guatambu	54
4.	METODOLOGIA.....	55
4.1.	Caracterização das plantas amargas	55
4.1.1.	Compostos fenólicos totais.....	55
4.1.2.	Atividade Antioxidante	56
4.1.2.1.	DPPH.....	56
4.1.2.2.	ABTS.....	56
4.1.3.	Atividade Antimicrobiana	56
4.2.	Produção das Cervejas	57
4.3.	Estimativa da melhor concentração de cada substituinte.....	59
4.4.	Análises Físico-químicas das cervejas	59
4.4.1.	Teor alcoólico.....	59
4.4.2.	pH	59
4.4.3.	Cor	59
4.4.4.	Amargor.....	60
4.4.5.	Turbidez.....	60
4.4.6.	Extrato Original	60
4.4.7.	Extrato Aparente.....	60
4.4.8.	Atenuação Aparente	60
4.5.	Análise sensorial	61
4.5.1.	Aceitação sensorial.....	61
4.5.2.	Perfil descritivo otimizado	62
4.6.	Análise Estatística	65
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
5.1.	Caracterização das plantas amargas	66
5.1.1.	Análises físico-químicas.....	68
5.2.	Análise sensorial	73
5.2.1.	Carqueja.....	74
5.2.2.	Alcachofra	81
5.2.3.	Quina	86
5.2.4.	Pau Tenente e Guatambu.....	90

5.3.	Comparação entre os diferentes substituintes de lúpulo	95
5.3.1.	Caracterização físico-química	96
5.3.2.	Análise sensorial.....	98
5.3.2.1.	Aceitação	98
5.3.2.2.	Análise descritiva	101
6.	CONCLUSÃO	106
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
	APÊNDICE A - Questionário de recrutamento de avaliadores.....	120
	APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido	122
	APÊNDICE C - Questionário de frequência de consumo de cerveja.....	124

1. INTRODUÇÃO

A produção de cerveja é uma técnica antiga. Sua produção já era conhecida mesmo antes de se obter conhecimento sobre microbiologia e/ou enzimologia. A difusão da cerveja no mundo se iniciou com os Egípcios, que tornaram a cerveja conhecida para outros povos orientais, chegando, a partir daí, à Europa e, por meio dela, para o resto do mundo. No Brasil, a cerveja chegou em 1808, trazida pela família real portuguesa.

O Brasil se encontra hoje entre os quatro maiores produtores de cerveja do mundo, juntamente com China, Estados Unidos e Alemanha. Vale ressaltar que a cerveja é a bebida alcoólica mais consumida no país, sendo que a taxa de consumo per capita vem aumentando ao longo dos anos.

Vem crescendo no país, também, o segmento de micro-cervejarias, mais conhecidas como cervejarias artesanais, tornando-se, hoje em dia, um mercado atraente para ser explorado. Este setor vem se consolidando, pois, a intenção desses estabelecimentos não é concorrer diretamente com as líderes de mercado mas, sim, atingir um tipo de consumidor diferente, que se importa com as características sensoriais da cerveja.

O crescimento e consolidação deste setor propicia um aumento na demanda por pesquisas buscando melhorias na qualidade de matérias-primas, na qualidade tecnológica do processo da produção e na busca por ingredientes/adjuntos diferenciados.

A cerveja pode ser definida como bebida obtida pela fermentação de mosto cervejeiro de malte de cevada e água, com adição de lúpulo, por meio da ação de leveduras.

A cerveja *American lager* é conhecida popularmente no Brasil como *pilsen* por ter sua origem ligada à cidade de Pilsen, na Bohemia, República Tcheca. É uma cerveja produzida com água de baixa dureza, teor de extrato primitivo entre 11 e 13,5%, resultando em um teor alcoólico de 3 a 5 °GL. Ela se caracteriza por ser produzida utilizando malte do tipo *pilsen*, adjuntos e baixa quantidade de lúpulo. Tem ainda como características sensoriais principais: sabor refrescante e bem arredondado, cor brilhante e clara, lembrando a ouro polido e espuma densa de longa duração.

O lúpulo é uma planta típica de regiões frias, e de difícil a produção no Brasil. Os cones são estruturas das flores femininas do lúpulo, nos quais se encontram as lupulinas (resinas e óleos essenciais), responsáveis pelo amargor e aroma transmitidos à cerveja.

Por ter como principal característica sensorial promover o amargor na cerveja, a utilização de outras substâncias amargas surge como uma alternativa à substituição (parcial ou total) do lúpulo no processo cervejeiro.

O Brasil, devido à sua localização geográfica, possui clima favorável para o desenvolvimento de várias espécies de plantas, muitas das quais já são utilizadas na alimentação humana, em cosméticos, medicamentos e na medicina popular.

As denominadas plantas amargas fazem parte desta biodiversidade. Estas plantas geralmente são consumidas na forma de infusões aquosas, com uso geralmente correlacionado à medicina popular.

Diante disto, este trabalho buscou avaliar o potencial de plantas amargas, tipicamente brasileiras, no processo cervejeiro, aplicando-as como substituintes total de lúpulo.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial de utilização de carqueja, quina, alcachofra, pau tenente e guatambu como substituinte de lúpulo em cerveja artesanal tipo Pilsen.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a capacidade antioxidante e o teor de polifenóis totais das plantas;
- Estudar a produção de cerveja com substituição total de lúpulo;
- Caracterizar físico-quimicamente as cervejas produzidas utilizando cada um dos substituintes totais de lúpulo;
- Avaliar a aceitação sensorial das cervejas produzidas utilizando cada um dos substituintes totais de lúpulo;
- Caracterizar sensorialmente as cervejas obtidas por meio do perfil descritivo otimizado;
- Avaliar o perfil de compostos voláteis totais existentes nas cervejas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A cerveja é uma das bebidas mais antigas que se tem conhecimento. Relata-se que sua primeira fabricação ocorreu na região do Egito e da Mesopotâmia. No entanto, o relato de produção mais antigo encontrado remete à China por volta de 7000 a.C. (MCGOVERN et al., 2004). Certamente, o desenvolvimento da cerveja ocorreu em conjunto com o desenvolvimento da agricultura e da produção de grãos (MORADO, 2009). Porém, em seu início, a cerveja não tinha o aspecto e as características que são conhecidas hoje, pois era um produto fermentado feito naturalmente a partir de cereais, frutas e mel (MEUSSDOERFFER, 2009).

O processo cervejeiro foi se aperfeiçoando ao longo dos milênios. Na Idade Média, a cerveja era atividade exclusivamente caseira, sendo que os primeiros desenvolvimentos do processo em maior escala e o aperfeiçoamento das técnicas de produção, como, por exemplo, as primeiras citações sobre o uso de lúpulo, datadas do século IX, se deram em mosteiros, locais com maior atividade intelectual na época (MORADO, 2009).

Com o aumento da produção e da comercialização de cerveja, surgiu também a necessidade de controlar o processo e o aperfeiçoamento da bebida. Apareceram leis que regulamentavam a produção e a comercialização da cerveja, como a *Reinheitsgebot*, conhecida também como lei da pureza, que preconizava que, para ser considerada cerveja, a bebida deveria conter, como matérias-primas, apenas malte de cevada, lúpulo e água (OLIVER, 2011).

No Brasil, o decreto n. 6871, de 04 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 e fiscalização de bebidas. Nesta lei, estão definidos todos os parâmetros legais para produção e comercialização de cerveja no Brasil.

De acordo com a legislação brasileira (MAPA, 1994), cerveja é definida como bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo de malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo. Segundo a mesma legislação, parte do malte de cevada utilizado pode ser substituída por adjuntos, desde que não ultrapasse 45 % em relação ao extrato primitivo.

Outros pontos importantes contidos na legislação são a classificação de cerveja quanto ao teor de extrato primitivo (cerveja leve, cerveja comum, cerveja extra e cerveja

forte), quanto a cor (cerveja clara, cerveja escura e cerveja colorida), quanto a fermentação (cerveja de alta e de baixa fermentação), quanto ao teor alcoólico (cerveja sem álcool ou cerveja com álcool) e quanto a proporção de malte de cevada (cerveja puro malte, cerveja com o nome do vegetal predominante, ou, simplesmente, cerveja).

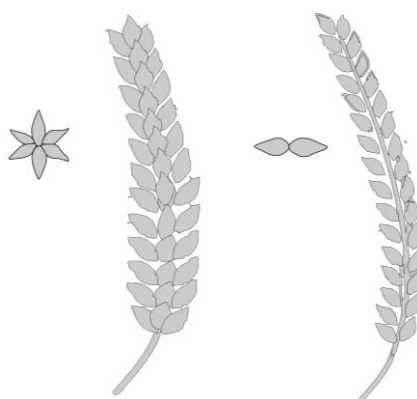
Logo, pode-se definir que a cerveja é um produto fermentado composto basicamente por malte de cevada, água, lúpulo e adjuntos sob ação de micro-organismos apropriados.

3.1. Matérias Primas

3.1.1. Cevada

A cevada é originária do Oriente Médio sendo uma planta da família das gramíneas e pertencente ao gênero *Hoerdum* (DE MORI; MINELLA, 2012). É considerada um dos cereais mais importantes do mundo (PIACENTINI et al., 2015). A planta de cevada pode chegar a um metro de altura, e os grãos se apresentam na forma de seis ou duas fileiras (Figura 1). A cevada de seis fileiras apresenta grãos com crescimento desigual devido à falta de espaço para crescimento de todos os grãos. Já a cevada de duas fileiras apresenta crescimento mais simétrico (MACGREGOR, 2003).

Figura 1 - Cevada de 6 fileiras e cevada de 2 fileiras.



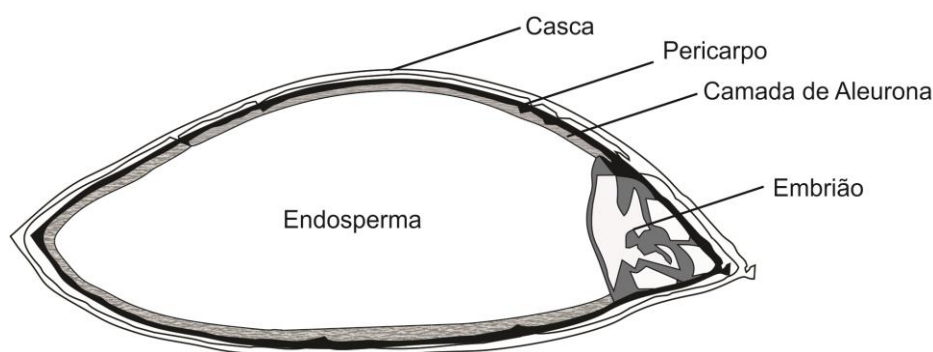
Fonte: Elaborada pelo autor.

O grão de cevada é constituído basicamente por casca, pericarpo, endosperma, embrião e camada de aleurona (Figura 2).

A casca e o pericarpo são constituídos de celulose e tem a função de proteger o grão e regular as trocas líquidas e gasosas (e, conseqüentemente, a dormência / germinação). No processo cervejeiro, são importantes por formarem a camada filtrante do mosto após a mosturação (KUNZE, 2006).

O endosperma é constituído essencialmente por amido, que funciona como a reserva de nutrientes para o grão (JÄÄSKELÄINEN et al., 2013), e que vai servir de substrato para a fermentação alcoólica (VAN DEN BOOM et al., 2006).

Figura 2 - Estrutura do grão de cevada



Fonte: Elaborada pelo autor.

A camada de aleurona é composta por uma fina camada de células ricas em proteínas, niacina, ácido fólico e fosfórico, e auxilia no processo de produção e liberação das enzimas do grão (DANERI-CASTRO et al., 2016).

Por fim, o embrião é encontrado na parte terminal do grão, rico em sais minerais e vitaminas que constitui a parte “viva” do grão, ou seja, a que possui capacidade de se desenvolver, quando as condições se tornam propícias, resultando no processo fisiológico de germinação e liberação das enzimas necessárias ao desenvolvimento da planta e que serão importantes ao processo cervejeiro (ZSCHOERPER, 2009).

A cevada em sua forma natural não possui as características adequadas para ser utilizada na fabricação da cerveja, sendo necessário efetuar o processo de maltagem dos grãos para a liberação das enzimas.

3.1.1.1. Maltagem

A maltagem é a etapa de germinação controlada do grão que objetiva propiciar a ocorrência das alterações necessárias para o processo cervejeiro (KUNZE, 2006), como a produção e ativação de enzimas capazes de hidrolisar as cadeias de proteínas e amidos em aminoácidos e açúcares indispensáveis à fermentação (BELETI; DUARTE; GEORG-KRAEMER, 2012).

O processo de maltagem pode ser dividido em três etapas: maceração, germinação e secagem (BOULTON; QUAIN, 2008). Na etapa de maceração, os grãos são imersos em água para absorver umidade (de 13% iniciais para 45%, aproximadamente) pois essa elevação é imprescindível para a etapa de germinação, uma vez que o grão não consegue germinar em condições de baixa umidade (COZZOLINO; ROUMELIOTIS; EGLINTON, 2014).

A maceração ocorre alternando-se ciclos de imersão em água com ciclos de drenagem, para que a água possa ser absorvida de forma homogênea no grão, uma vez que o embrião absorve água mais rapidamente do que o endosperma (PALMER, 2006a; PRIEST; STEWART, 2006).

A germinação é o processo fisiológico de transformação do grão de cevada em uma nova planta, em que ocorre o desenvolvimento da radícula e da acrospira, além da liberação de enzimas que irão hidrolisar as proteínas e o amido presentes no grão para transformá-los em substrato necessário para a nova planta (OLIVER, 2011).

Os principais fatores que afetam a germinação e que são controlados pelo processo são: temperatura, teor de umidade, ventilação e tempo de germinação. Todos estes fatores são de extrema importância e influenciam diretamente na qualidade do malte produzido (DAL RI; ROCHA; VOLPI, 1995).

A produção de enzimas ao longo do processo de germinação é catalisada por ações de hormônios liberados do embrião (AMRI et al., 2016). Esses hormônios são constituídos de ácido giberélico ou substâncias similares a este ácido, por isto uma etapa adicional de indução da produção de enzimas pode ser a agregação destes compostos como aditivos durante o processo de maltagem (AOKI et al., 2014).

As enzimas mais importantes formadas ao longo do processo são as glucanases (KUNTZ; BAMFORTH, 2007) - responsáveis por quebrar a parede celular do endosperma amiláceo liberando o acesso das amilases ao amido presente no

endosperma. As amilases (alfa e beta), responsáveis pela transformação do amido em açúcares menores, e as proteases, que propiciam a síntese de aminoácidos essenciais (BOULTON; QUAIN, 2006).

Por fim, o processo de maltagem se encerra na etapa de secagem, quando é feita a retirada da água do malte verde por meio do ar de secagem, interrompendo suas atividades fisiológicas, visando o armazenamento da matéria-prima (TERPINC et al., 2016).

Esta etapa também é responsável por prover características desejáveis ao malte, como cor, aroma e sabor. Por exemplo, maltes escuros sofrem reação de Maillard e caramelização, promovendo características peculiares aos mesmos (CARVALHO et al., 2014).

Os maltes podem ser divididos basicamente em maltes base e maltes especiais (Tabela 1).

Os maltes base são aqueles presentes em maior quantidade nas formulações e são as principais fontes de enzimas, açúcares fermentescíveis e aminoácidos. Os maltes especiais por sua vez estão presentes em pequena quantidade nas formulações, para propiciar características sensoriais específicas, como cor, sabor, viscosidade e aroma, típicos de cada estilo de cerveja (BRIGGS et al., 2004).

Tabela 1 – Tipos de malte, classificação e utilização

Tipo de Malte	Classificação do Malte	Utilização
Malte Pilsner	Malte Base	É um malte básico para a elaboração de qualquer tipo cerveja, de alto poder enzimático.
Malte Crystal	Malte Especial	Confere cor dourada, aroma e sabor caramelo.
Malte Defumado	Malte Especial	Transmite sabor e aroma de defumado para a cerveja.
Malte Viena	Malte Base	Possui bom poder enzimático, usado para cervejas âmbar.
Malte Carapils	Malte Especial	Confere corpo, e sabor na cerveja.
Malte Caramelo	Malte Especial	Confere cor dourada, aroma e sabor caramelo.
Malte Acidulado	Malte Especial	Reduz o pH do mosto.
Malte Munique	Malte Base	É indicado para cervejas alemãs, como a Altbier e a Dunkel.
Malte Chocolate	Malte Especial	Confere cor, aroma e sabor, sendo utilizado em cervejas escuras.
Malte Preto	Malte Especial	Confere cor, aroma e sabor, sendo utilizado em cervejas escuras.
Malte Caramunich	Malte Especial	Confere cor dourada, aroma e sabor caramelo.
Malte Pale ale	Malte Base	É um malte com alto poder enzimático, indicado para ales.
Malte Biscuit	Malte Especial	Confere aroma e sabor torrado na cerveja, lembrando biscoito.

Fonte: Baseado em: Dislaken (2016)

3.1.2. Adjunto

O uso de adjuntos no processo cervejeiro é uma prática comum em muitas cervejarias, para, de modo geral, diminuir os custos de produção (SLEIMAN; VENTURINI FILHO, 2004). Porém, com o aumento do número de cervejas artesanais,

criou-se a demanda de utilização de adjuntos “especiais”, que visam conferir ao produto características sensoriais peculiares.

Os adjuntos são todas as substâncias adicionadas ao mosto com objetivo de substituir o malte de cevada como fonte de carboidrato (REBELLO, 2009). Estes adjuntos podem ser subdivididos em adjuntos amiláceos e adjuntos açucarados (D’AVILA et al., 2012).

Em relação aos adjuntos amiláceos, podem ser citados o trigo, o milho, o arroz e a cevada não malteada (ALMEIDA E SILVA, 2005). Os substratos amiláceos geralmente são adicionados ao processo durante a mosturação, visto que necessitam sofrer ação enzimática. No entanto, deve-se ter atenção à temperatura de gelatinização dos adjuntos, pois, dependendo da mesma, pode ser necessária fazer a gelatinização separadamente (PRIEST; STEWART, 2006).

Os adjuntos açucarados por sua vez não necessitam sofrer hidrólise, o que é vantajoso para o processo. Os principais adjuntos açucarados são o xarope de maltose e o açúcar invertido. A adição dos mesmos na fabricação da cerveja pode ser feita diretamente na etapa de fervura, diminuindo a necessidade enzimática e de espaço físico durante a mosturação (SLEIMAN; VENTURINI FILHO, 2004)

Além destes citados acima, são relatados o uso de diversos adjuntos à cerveja, como: mel, banana, caldo de cana, arroz preto, abóbora, entre outros (ARRUDA; PEREIRA JUNIOR; GOULART, 2013; CARVALHO et al., 2009).

3.1.3. Água

Sem dúvida, a água é a principal matéria-prima da cerveja, representando cerca de 89 a 98% de sua composição. Além disso, se considerarmos a água utilizada para limpeza, aquecimento, caldeira e outros fins, aumenta-se ainda mais a importância da mesma para o processo cervejeiro (BRAEKEN; VAN DER BRUGGEN; VANDECASTEELE, 2004; FILLAUDEAU; BLANPAIN-AVET; DAUFIN, 2006).

Historicamente, as cervejarias sempre se alocaram próximas a fontes de água de excelente qualidade. A composição da água local impactou em muitos estilos de cervejas clássicas europeias, como da região de Pilsen na República Checa, e a de Burton, na Inglaterra. Em Pilsen, a água de baixa dureza (mole), com muito pouco mineral, caracterizou a produção clássica de *lagers*. Em Burton, a água tem uma dureza

muito elevada, e caracterizou essa região, famosa pela produção de cervejas *ales* claras e amargas (OLIVER, 2011).

Embora seja possível ajustar a composição da água da forma desejada com o uso de ações químicas e físicas, a qualidade e quantidade da água ainda é um fator levado em consideração por grandes cervejarias, na escolha do local de instalação da fábrica, pois impacta no custo de tratamento deste líquido. No Brasil, a maior parte das regiões dispõe de águas com poucos sais, as quais são adequadas à produção das cervejas *lager*.

Os minerais presentes na água cervejeira podem afetar diretamente o sabor e aroma da bebida (COMRIE, 1967). A tabela 2 apresenta os principais minerais e suas contribuições à bebida.

Tabela 2 – Minerais encontrados na água e sua contribuição à cerveja

Minerais	Características na cerveja
Cálcio (Ca²⁺)	Diminui o pH. Auxilia em uma melhor sedimentação do trub e da levedura. Pode causar espumamento (<i>gushing</i>) na cerveja
Magnésio (Mg²⁺)	Necessário a algumas enzimas, porém, em excesso, pode aumentar o sabor e aroma amargo/ácido.
Sódio (Na⁺)	Aumenta sabor salgado em altas concentrações, mas, em concentrações moderadas, pode conferir certa doçura e aumentar a palatabilidade.
Potássio (K⁺):	Confere características semelhantes ao sódio
Ferro (Fe²⁺):	Pode conferir aroma metálico e causar turvação no mosto.
Zinco (Zn²⁺)	Necessário à levedura em baixas concentrações mas, em altas concentrações, pode ser tóxico.
Bicarbonato (HCO³⁻)	Aumenta o pH e pode atrapalhar na formação do trub e na filtração, sendo indesejável em altas concentrações.
Sulfato (SO₄²⁺)	Confere característica mais seca/adstringente e um amargor mais agradável. Porém, pode ser metabolizado e conferir sabor e aroma de sulfeto.
Cloreto (Cl⁻)	Aumenta a palatabilidade e doçura, mas, em altas concentrações, pode inibir a levedura.

Fonte: Baseado em Briggs et al. (2004) e Oliver (2011).

3.1.4. Levedura

As leveduras, responsáveis por transformar o mosto cervejeiro em produto final, são seres unicelulares pertencentes ao reino Fungi, geralmente do gênero *Saccharomyces*, para a produção de bebidas fermentadas e fermento-destilladas (BORTOLI et al., 2013). As leveduras utilizadas na fabricação da cerveja, de forma geral, podem ser classificadas como “ale” (levedura de alta fermentação) e “lager” (levedura de baixa fermentação) (CASAREGOLA et al., 2001).

Esta divisão se dá por algumas características específicas, que são: a) temperatura do processo fermentativo - as ales fermentam o mosto entre 18 a 22°C e as lagers entre 7 a 15°C; b) tempo de fermentação – geralmente de 3 a 5 dias para ale e de 7 a 10 dias para lager; c) posição da levedura ao final do processo fermentativo – as lagers se depositam no fundo da dorna, enquanto as ales ficam na superfície do mosto, porém esta última variação tem se tornado menos usual, pois ambas as leveduras ao encerrar o processo fermentativo decantam e são retiradas na parte inferior das dornas (BAMFORTH, 2002).

Ainda pode-se diferenciar estes micro-organismos pela capacidade das lagers de fermentar melibiose, enquanto as ales não (CARVALHO; BENTO; ALMEIDA E SILVA, 2006; STEWART; RUSSELL, 1998).

As características sensoriais denotadas por elas na cerveja são outro aspecto importante destas leveduras: as ales tendem a deixar a cerveja com sabor mais frutado e característico da estirpe; as lagers se caracterizam por não passar tantos aspectos sensoriais à cerveja, obtendo-se uma bebida com característica mais neutra.

Com o crescimento das cervejarias artesanais, tem aumentado a utilização de leveduras selvagens, como as do gênero *Brettanomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida* ou *Zygosaccharomyces*.

No caso da *Brettanomyces*, este gênero de levedura era utilizado apenas em cervejas de fermentação espontânea, pois tem por característica realizar tanto a via fermentativa alcoólica quanto a via metabólica do ácido acético, obtendo-se, com isso, um sabor único a alguns tipos de cerveja, como as *Lambic* (STEENSELS et al., 2015).

3.1.5. Lúpulo

O lúpulo é um dos ingredientes mais importantes da cerveja, mas que só passou a fazer parte da formulação a partir do século IX. No século VIII, era comum a utilização de uma mistura chamada *gruit* (que continha alecrim, gengibre, artemísia, aquilea e urze) na fabricação de cerveja (OLIVER, 2011). A partir de então, o lúpulo, muito provavelmente, começou a ser usado, mais por suas propriedades antimicrobianas (melhorando a conservação da bebida) do que por seu sabor amargo (MORADO, 2009)

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta trepadeira pertencente à família *Cannabaceae* (ALMAGUER et al., 2014). Sua área de cultivo é restrita a duas faixas: entre os paralelos 35° e 55°, tanto no hemisfério Sul como no hemisfério Norte, sendo difícil sua produção em diversos países, como no Brasil (MORAIS, 2015). Os principais países produtores de lúpulo são Alemanha, Estados Unidos, República Checa e China, sendo responsáveis por 50.900 hectares de lúpulo plantados em 2015 (HOPSTEINER, 2015).

Vale ressaltar também que o lúpulo é uma planta dioica, ou seja, existem plantas masculinas e femininas (TSCHOPE, 2001). Para o processo cervejeiro, o lúpulo é constituído pelos cones da inflorescência do *Humulus lupulus*, em sua forma natural ou industrializada (Figura 3), sendo utilizada no processo somente a estrutura das inflorescências femininas (RUCKLE; SENN, 2006).

Contidas nestes cones estão as lupulinas, partículas formadas por resinas e óleos essenciais que conferem à cerveja aroma e amargor característico do lúpulo.

Figura 3 - Representação da flor feminina do lúpulo.

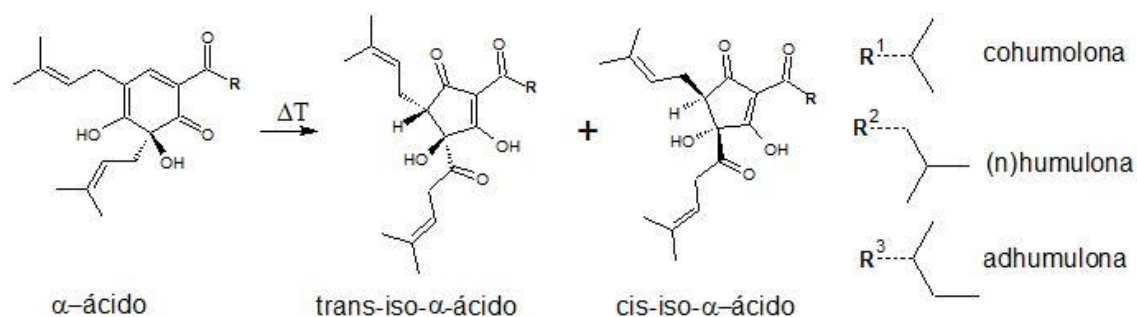


Fonte: Elaborada pelo autor.

As resinas e os óleos essenciais são os constituintes mais importantes do lúpulo para o processo cervejeiro. Em relação às resinas, estas são compostas pelos α -ácidos e β -ácidos, que estão presentes em diferentes proporções de acordo com a variedade do lúpulo (SILVA; FARIA, 2008; VAN OPSTAELE et al., 2013).

Os α -ácidos são isomerizados no processo de fervura em iso- α -ácidos (Figura 4) (OLADOKUN et al., 2016), e são considerados mais amargos que os ácidos originais, sendo responsáveis pela maior parte do amargor detectado na cerveja (HASELEU; INTELMAAN; HOFMANN, 2009). Os principais iso- α -ácidos encontrados na cerveja são os isômeros cis e trans da isocohumulona, isohumulona e isoadhumulona.

Figura 4 - Estrutura química dos α -ácidos e indução térmica que ocorre durante a fervura do mosto.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os β -ácidos tem sua ação ligada ao efeito bactericida, auxiliando na inibição da contaminação bacteriana do mosto, visto que estes compostos pouco influenciam no amargor da bebida (DE KEUKELEIRE et al., 2007).

Os óleos essenciais do lúpulo concedem ao mosto e à cerveja o aroma típico do lúpulo. Estes óleos são de natureza complexa, com numerosos compostos que contribuem para o aroma da cerveja (EYRES; MARRIOTT; DUFOUR, 2007). Como exemplo temos o linalol e o geraniol, compostos caracterizado como responsáveis por aromas florais, o limoleno, caracterizado por aroma cítrico, entre outros (DRESEL et al., 2015).

Além das contribuições já citadas, o lúpulo também atua na estabilidade da espuma e como fonte de compostos antioxidantes (DE KEUKELEIRE, 2000).

Apesar de todos os efeitos benéficos do uso do lúpulo, deve-se ressaltar que algumas de suas substâncias são muito suscetíveis à oxidação, causando defeito

sensorial na bebida, conhecido como *light-struck*, resultado do armazenamento incorreto da cerveja (GROS; COLLIN, 2012).

Em relação à forma de utilização no processo cervejeiro, pode-se classificar as variedades de lúpulo em dois grandes grupos. Um chamado de lúpulo amargor, com maior concentração de alfa-ácidos, e outro denominado de lúpulo de aroma, geralmente adicionado em processos de lupulagem tardia, no final da mosturação (BRIGGS et al., 2004).

Como exemplo de lúpulo amargor, podem ser citadas as variedades Magnum e Nugget, que possuem teores de alfa-ácidos comumente acima de 10%. Como exemplos de lúpulo aroma, tem-se o Saaz e o Tradition, que possuem porcentagem de alfa-ácidos normalmente inferior a 7%.

3.2. Tipos de cerveja

A produção de cerveja tem início na seleção das matérias-primas, que estará de acordo com o estilo de cerveja que se deseja produzir. Cada estilo possui características sensoriais específicas que são conferidas à bebida por meio de uma seleção criteriosa da mistura de ingredientes utilizados (STRONG; ENGLAND, 2015).

De forma geral, pode-se dividir as cervejas em três classes distintas: as ales, as lagers e as de fermentação espontânea.

As cervejas lagers, em geral, são mais leves e com menos corpo, podendo apresentar diferentes cores, aromas e sabores. Dentre as representantes desta classe, podem ser citadas a *Pilsner*, a *Dunkel*, a *Bock* e a *Schwarzbier*.

As cervejas *Pilsner*, douradas e brilhantes, apresentam leve amargor e sabor mais pronunciado de malte. Este estilo é originário da cidade de Pilsen na Rep. Tcheca.

Dunkel é um estilo de cerveja tradicional de Munique, Alemanha. Sua cor varia de cobre a marrom escuro, frequentemente com um tom avermelhado. É uma clássica lager castanha que se desenvolveu como uma cerveja escura e com mais ênfase no malte (MORADO, 2009).

As *Schwarzbier* são cervejas escuras produzidas com a adição de maltes torrados. Possuem aromas de torrefação, que lembram chocolate, café e cacau. Apresentam corpo entre baixo e médio e paladar seco ao final.

Cervejas *Bock* são em sua maioria avermelhadas, mas há as versões claras (*Heller Bock*) e também escuras (*Dunkler Bock*). Apresentam aromas maltados, médio corpo e teor alcoólico mais elevado.

As ale por sua vez possuem, de forma geral, maior corpo, sabor mais frutado e maior contribuição da levedura no sabor da bebida. Podem ser citadas como representantes desta classe as *Pale Ale*, a *Weissbier*, e *Stout*.

A *Pale Ale*, de origem inglesa, é um dos estilos de cerveja mais antigos do mundo. A expressão *Pale Ale* é utilizada para indicar uma cerveja ale mais clara. Ela possui vários sub-estilos, como IPA (*India Pale Ale*), *English Pale Ale*, *Imperial IPA*, *Golden Pale Ale*, *American Pale Ale*, *American IPA*, *Double IPA*, entre outras (MORADO, 2009).

As principais características desse estilo são: coloração dourada a acobreada e notas terrosas e herbais provenientes do lúpulo. O amargor do lúpulo é de médio a alto no aroma e no sabor. Apresenta corpo médio e o sabor e aroma do malte varia de médio a baixo. Toques de caramelo são aceitáveis. Notas frutadas no aroma e no sabor vão de moderadas a fortes. Em temperaturas muito baixas, podem apresentar turbidez (OLIVER, 2011).

Weizenbier ou *Weissbier* são cervejas de trigo típicas da Bavária, região mais ao sul da Alemanha. Em sua grande maioria não são filtradas, embora também exista versões filtradas e a versão *bock* (*Weizenbock*) (PRIEST; STEWART, 2006). Este estilo se caracteriza por ser uma cerveja com ótima formação de espuma e sabor frutado, lembrando cravo e banana.

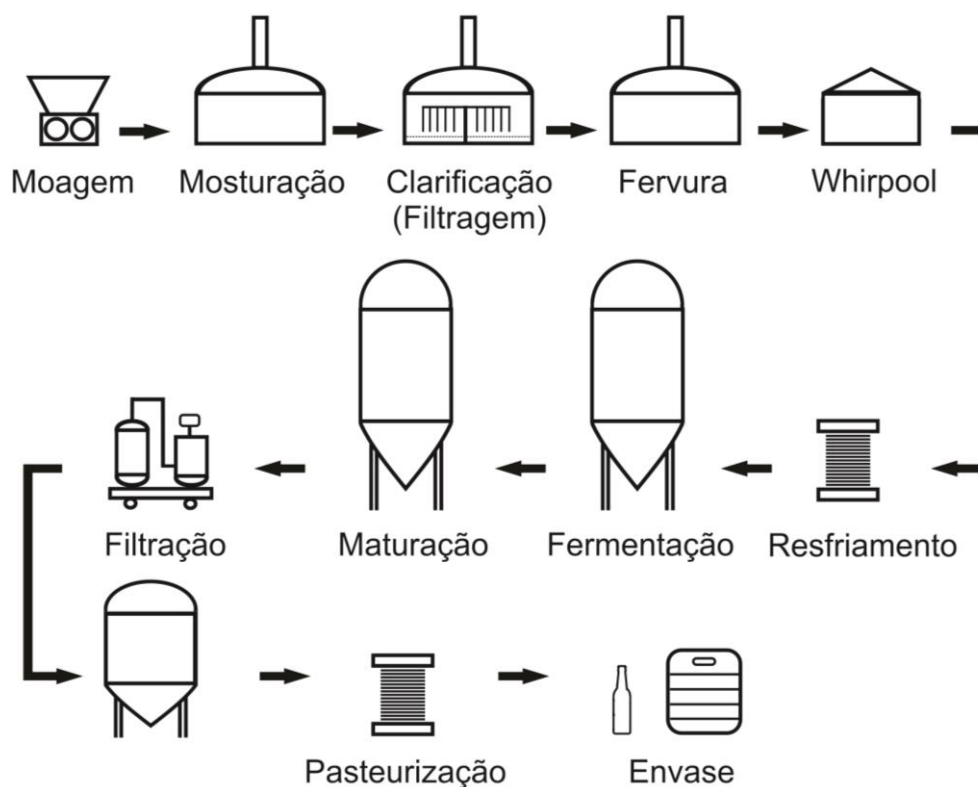
Stout é um estilo típico do Reino Unido e Irlanda. Apresenta aromas e sabores de torrefação, e, dependendo da variante do estilo - *Dry Stout*, *Foreign Extra Stout*, *Oatmeal Stout*, *American Stout* ou *Russian Imperial Stout* - pode ter baixo ou alto corpo (DISLAKEN, 2016).

As de fermentação espontânea tem maior produção, de forma geral, na Bélgica. São cervejas mais ácidas e possuem um paladar peculiar, devido ao tipo de processo fermentativo (STEENSELS et al., 2015). Exemplos de cervejas de fermentação espontânea são os estilos *lambic*, *gueze*, *faro*, entre outros.

3.3. Processamento

Uma vez escolhido o estilo de cerveja a ser produzido, bem como os ingredientes a serem utilizados, inicia-se a produção da cerveja. O fluxograma do processo cervejeiro pode ser subdividido em 11 etapas, que são: moagem, mosturação, clarificação (filtragem), fervura, *whirpool* e resfriamento, fermentação, maturação, filtração, pasteurização e envase (Figura 5).

Figura 5 - Fluxograma da fabricação de cerveja



Fonte: Elaborada pelo autor.

3.3.1. Moagem

O malte, ou a mistura de maltes e adjuntos a serem utilizados no processo de fabricação, necessita ser quebrado para propiciar uma melhor ação enzimática e facilitar a extração dos compostos de interesse para o mosto (ALTINO et al., 2015). Nesta fase, deve-se controlar o tamanho das partículas obtidas, pois em uma moagem muito grossa

perde-se rendimento na extração de açúcares e uma moagem muito fina pode ocasionar problemas na filtração (IZYDORCZYK; DEXTER, 2016).

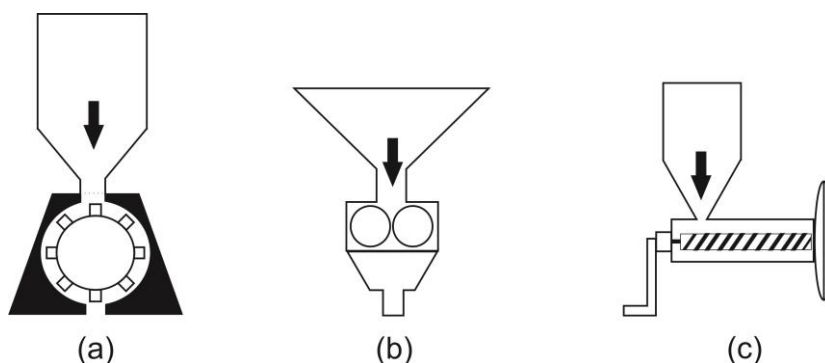
A moagem é feita, de forma geral, em moinho de rolo (Figura 6b), utilizado para obter uma quebra satisfatória do endosperma do grão sem comprometer a casca, que é utilizada como camada filtrante na mosturação. O moinho de rolos pode ser formado apenas por dois ou, em outras configurações, de quatro a seis rolos (PRIEST; STEWART, 2006) (PALMER, 2006a).

Algumas cervejarias utilizam moinho de martelo (Figura 6a) para obterem um produto de granulometria mais fina que o obtido pelo moinho de rolo, aumentando desta forma o rendimento da mosturação. Por outro lado, aumenta-se também o nível de β -glucanos, o que pode prejudicar a filtração posterior (BRIGGS et al., 2004).

Em processo artesanal, é frequente a utilização do moinho de discos (Figura 6c), devido ao seu baixo custo.

O processo de moagem pode ser realizado de forma seca ou úmida. Na moagem seca, os grãos secos são selecionados e moídos sem nenhuma preparação prévia. No processo de moagem úmida, há uma umidificação prévia do grão, pois desta forma a casca do grão fica mais maleável, sendo possível obter uma moagem mais fina sem comprometer a estrutura da casca (VENTURINI FILHO; NOJIMOTO, 1999).

Figura 6 – Moinho de martelo (a), rolo (b) e disco (c)



Fonte: Elaborada pelo autor.

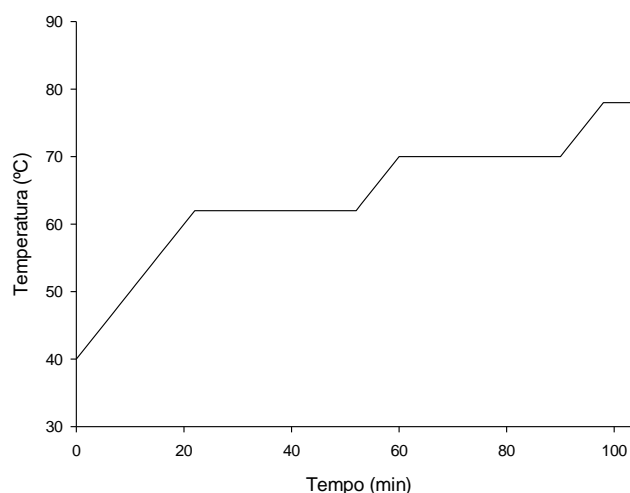
3.3.2. Mosturação

Os grãos moídos são suspensos em água e aquecidos em temperatura controlada, processo definido como mosturação, cujo objetivo principal é realizar a hidrólise do amido em açúcares a serem metabolizados pela levedura (JONES, 2005).

As principais reações que acontecem nesta etapa são catalisadas por enzimas. A mosturação consiste em deixar a mistura malte e água em temperaturas adequadas para atuação de cada enzima, para se obter, ao final, um mosto rico em nutrientes (BRANDAM et al., 2003). Este processo pode ser efetuado tanto por infusão como por decocção.

A infusão consiste no aquecimento conjunto da mistura de água e grãos e no repouso desta mistura na temperatura desejada (IZYDORCZYK; DEXTER, 2016). Por exemplo, em um processo de mostura em que se deseja atuação de β -amilase por 30 minutos e de α -amilase por 30 minutos, a mistura de malte será aquecida (geralmente a $1^\circ\text{C}/\text{min}$) até aproximadamente 62°C e permanecerá em repouso nesta temperatura, havendo, após o tempo determinado, um novo aquecimento e uma nova rampa em aproximadamente 70°C (Figura 7).

Figura 7 – Curva de mosturação por infusão múltipla.

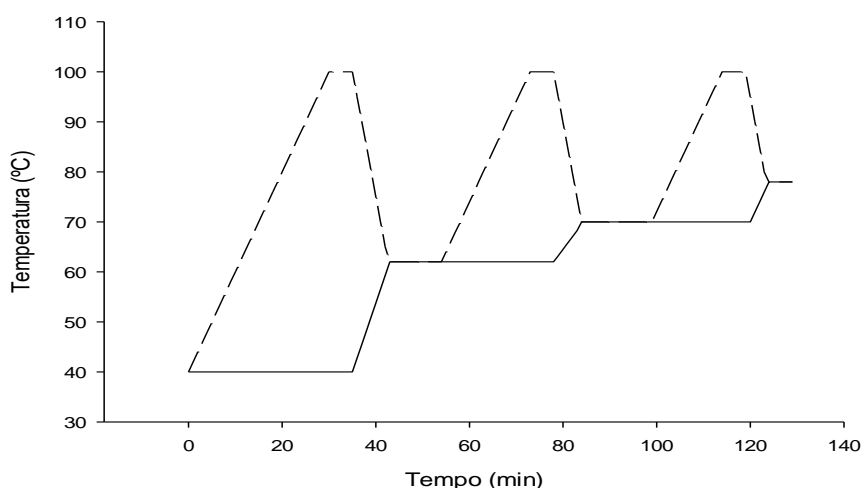


Fonte: Elaborada pelo autor.

O processo descrito é denominado infusão múltipla, e pode conter quantas rampas o cervejeiro considerar necessárias. O processo no qual é utilizada somente uma rampa é denominado de infusão simples.

O processo de decocção também irá possuir as rampas de repouso enzimático da mesma forma que o processo de infusão. A diferença entre os dois processos está na separação parcial da mistura água/grãos (ou água/adjunto), aquecida à temperatura de ebulição e posteriormente misturada ao restante, para fazer com que todo mosto alcance a temperatura desejada de mostura (Figura 8). Da mesma forma, a decocção pode ser simples, dupla ou múltipla.

Figura 8 - Curva de mosturação por decocção.



Fonte: Elaborada pelo autor.

As principais enzimas provenientes do malte são as amilases (principalmente as α e β – amilases), as glucanases e as proteases (ORTEGA-HERAS; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2003). As glucanases (temperatura de atuação em torno de 45°C) são enzimas responsáveis pela hidrólise dos β -glucanos – principal componente da parede celular do endosperma do grão da cevada. A hidrólise eficiente deste polímero é importante pois, caso sua degradação seja ineficiente, a atuação das enzimas amilolíticas fica dificultada, reduzindo o rendimento da mostura, além de aumentar a viscosidade do mosto e da cerveja, gerando problemas de filtração e turbidez na bebida (DURAND et al., 2009).

Como as glucanases são as primeiras enzimas liberadas durante o processo de maltagem, caso esta etapa tenha sido realizada de forma eficaz, não se faz necessária a

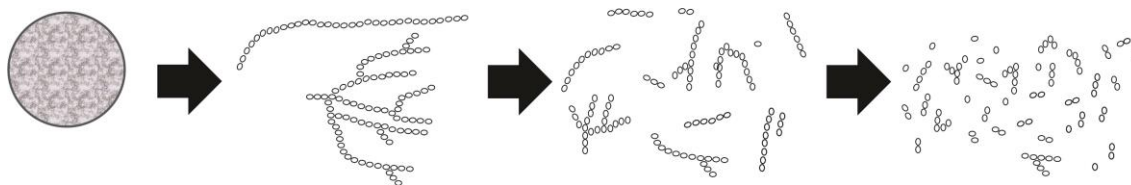
atuação desta enzima na mosturação (BRIGGS et al., 2004), embora alguns cervejeiros ainda mantenham o mosto à temperatura ótima de atuação das glucanases.

As proteases (atuação por volta de 52 °C), por sua vez, são responsáveis pela hidrólise das proteínas em peptídeos e aminoácidos. Os aminoácidos são nutrientes importantes para o desenvolvimento da levedura cervejeira. Além disso, as proteínas estão diretamente ligadas à espuma da cerveja. Logo, uma hidrólise excessiva pode ocasionar menor qualidade e estabilidade de espuma (JONES, 2005).

Assim como as glucanases, utilizando um malte bem modificado na maltagem, é dispensável a atuação das proteases no processo de mostura. Por outro lado, se for utilizado um adjunto rico em proteínas ou mesmo malte de trigo, pode ser realizado o repouso proteico (JONES, 2005).

As amilases são as enzimas de maior importância no processo de mosturação, pois são as responsáveis por tornar a mistura água/malte, rica em amido, em um mosto repleto de açúcares fermentescíveis (BRANDAM et al., 2003). O processo de sacarificação ocorre com a gelatinização do grânulo de amido e subsequente atuação das enzimas (KUNZE, 2006) promovendo a liquefação e sacarificação do mosto (Figura 9).

Figura 9 – Gelatinização e sacarificação do amido durante a mosturação

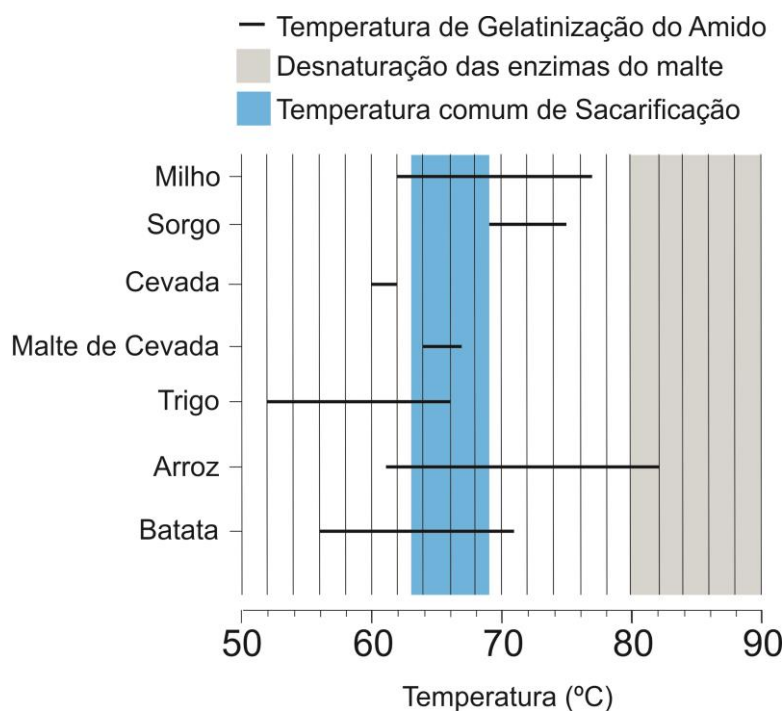


Fonte: Adaptado de Kunze, 2006

A gelatinização é um processo no qual o grânulo de amido, insolúvel em água fria, é submetido a aquecimento na presença de água. Com o aquecimento, os grânulos começam a absorver água e a inchar. O contínuo aquecimento do mosto promove maior absorção da água, maior inchaço do grânulo e a lixiviação de amilose, até a ruptura total da estrutura do grânulo de amido (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

A Figura 10 mostra as faixas de temperatura de gelatinização de amidos de diferentes fontes. Pode-se observar que nem todos amidos gelatinizam em temperaturas usualmente empregadas na mosturação. Em caso de utilização destes adjuntos, deve-se então realizar uma gelatinização paralela.

Figura 10 – Temperatura de gelatinização de alguns amidos em relação a temperatura de mosturação.



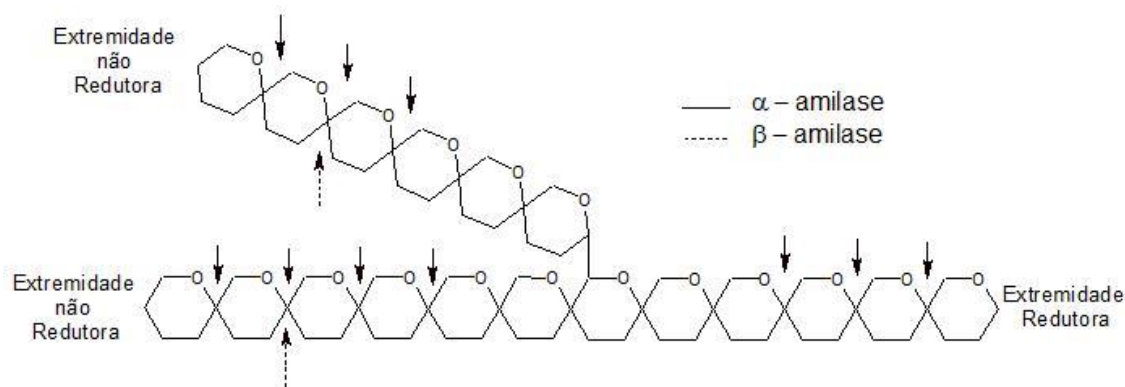
Fonte: Adaptada de Briggs (2004).

A hidrólise enzimática é realizada principalmente pela ação das enzimas α e β -amilase no meio. A α -amilase (temperatura de atuação em torno de 68 °C) é uma endoenzima – atua no interior da molécula - que catalisa as reações α -1,4 glicosídicas, liberando no meio dextrinas, maltotriose, maltose e glicose (Figura 11). Esta enzima não é capaz de romper as ligações α -1,6 presentes na amilopectina (XIAO; STORMS; TSANG, 2006).

A β -amilase (faixa de atuação em torno de 62 °C) por sua vez é uma exoenzima – age na extremidade da molécula – que hidrolisa ligações α -1,4, a partir da extremidade não redutora da molécula, produzindo maltose (Figura 11). Esta enzima também não é capaz de hidrolisar ligações α -1,6 (MOHAN et al., 2005).

Além destas enzimas, no malte também podem ser encontradas maltase e dextrinase limite, porém estas são de menor importância para o processo cervejeiro pois não toleram as temperaturas geralmente utilizadas no processo de mosturação (BRIGGS et al., 2004).

Figura 11 – Atuação de α – amilase e β – amilase na cadeia de amilopectina.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Desta forma, o mosto ao final do processo de sacarificação é composto por açúcares fermentescíveis, maltose em sua maioria, que serão utilizados pelas leveduras para sua síntese metabólica, e por dextrinas (dextrinas e dextrinas-limite), as quais estarão no produto final colaborando com o corpo e a doçura da cerveja (DE KEUKELEIRE, 2000).

Ao término da ação enzimática desejada, o mosto deve ser aquecido a aproximadamente 75-78 °C para realizar a inativação das enzimas presentes. O uso de temperaturas acima de 80 °C pode acarretar a migração de taninos da casca de malte para o mosto, deixando a cerveja com sensação de uma bebida mais seca.

3.3.3. Filtração

Ao final do processo de mosturação, é necessário separar o mosto rico em açúcares da casca e do material não solubilizado. De forma geral, este processo é realizado em tinas de filtragem.

Estas tinas são recipientes contendo um fundo falso perfurado que permite a passagem do líquido, retendo as cascas (KUNZE; WAINWRIGHT, 1996). A camada de cascas é utilizada como camada filtrante do mosto.

Ao final do processo, com o objetivo de aumentar a extração dos açúcares que ainda ficam retidos na camada filtrante, realiza-se a lavagem das cascas, até o mosto atingir aproximadamente extrato 1 grau plato, na saída da tina de filtragem (EATON, 2006; PRIEST; STEWART, 2006).

3.3.4. Fervura

Ao final do processo de filtração, tem-se um mosto rico em açúcares necessários ao processo fermentativo. Então, inicia-se a fervura, na qual o mosto é levado à ebulição, permanecendo geralmente por uma a duas horas para que todas as transformações necessárias ocorram.

Dentre estas transformações, pode ser citada, por exemplo, a esterilização (DISLAKEN, 2016). Ao ficar em temperatura de ebulição por tanto tempo, espera-se que os micro-organismos contaminantes, como bactérias e leveduras selvagens, sejam inativados, permitindo a atuação específica da levedura cervejeira adicionada (BOULTON; QUAIN, 2008).

Além dos micro-organismos, as enzimas ainda presentes no mosto também são inativadas, e esta inativação é desejável pois todas as alterações proporcionadas por elas, conduzidas pelo cervejeiro, já ocorreram no processo de mostura (OLIVER, 2011).

Além disso, a fervura promove a evaporação de água, resultando na diminuição de 4 a 8% do volume inicial de mosto, que auxilia atingir a concentração ideal do teor de açúcar desejado para o processo de fermentação (MORADO, 2009).

Outro fato importante na evaporação da água é a remoção de compostos voláteis do mosto. O DMS (dimetil sulfeto), formado pela decomposição térmica da S-metilmetionina, presente em maltes lager, no processo de ebulição, é rapidamente perdido por evaporação. Caso o mesmo não seja totalmente eliminado, ele irá conferir “sabor de vegetal cozido” à bebida, o que é considerado um sabor e aroma desagradável (off-flavor) para grande parte das cervejas (BRIGGS et al., 2004).

Também na fervura se adiciona o lúpulo, que irá conferir amargor característico, aroma e sabor à bebida e também ajudar na conservação do produto (INTELMANN et al., 2009).

O lúpulo é adicionado em duas etapas: no início da fervura, o lúpulo que irá conferir amargor à bebida, para que ocorra uma melhor conversão dos α -ácidos em iso- α -ácidos. O lúpulo que confere aroma é adicionado ao final (*late hopping*), para que os compostos aromáticos ali presentes não sejam perdidos (SILVA; FARIA, 2008).

De forma geral, os lúpulos adicionados no início da fervura são variedades que possuem maior proporção de α -ácidos. A transformação dos α -ácidos em iso- α -ácidos é uma sucessão de reações químicas que necessitam de tempo e calor (JASKULA et al.,

2008). Ela envolve uma transferência de prótons, uma tautomerização, um rearranjo alfa-ceto e, por fim, outra transferência de prótons (Figura 12).

Os óleos essenciais e os β -ácidos do lúpulo também são extraídos ao longo da etapa de fervura e se incorporam à bebida para conferir características sensoriais e de conservação ao produto (DE KEUKELEIRC, 2000).

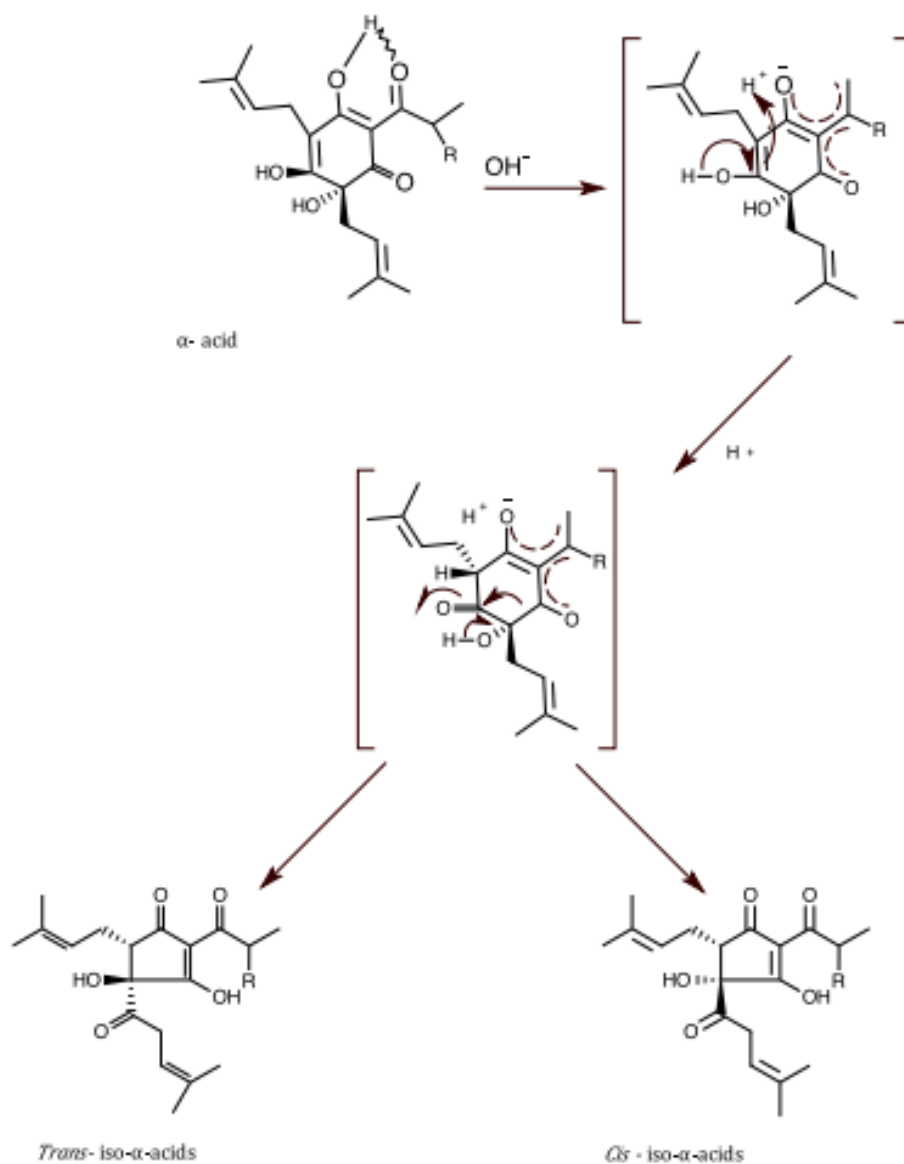
Outra modificação resultante do processo de fervura é a remoção de material proteico, pois, caso o mesmo não seja removido, a estabilidade coloidal da cerveja, a filtração e a clarificação serão prejudicadas. O processo de agregação e precipitação das proteínas pode ocorrer por forças intermoleculares entre duas proteínas ou por interações das mesmas com polifenóis (IIMURE et al., 2012).

Algumas proteínas ou complexos proteicos coagulam com o simples aquecimento (“hot break”), formando o denominado “trub quente” (JAKUBOWSKI et al., 2016). Outras, por sua vez, coagulam após o resfriamento do mosto (“cold break”), formando o “trub frio”. Para facilitar a remoção do “trub”, pode-se adicionar substâncias, como carragenina, que vão intensificar a aglomeração dos flocos a serem precipitados.

Outras alterações importantes ainda ocorrem no processo de fervura, como a redução do pH do mosto, a alteração de cor e sabor, propiciadas pela reação de Maillard, e a caramelização de açúcares (PRIEST; STEWART, 2006).

Por fim, os objetivos da fervura podem ser sintetizados por (LEIPER; MIEDL, 2006):

- Inativar enzimas;
- Extrair e isomerizar compostos derivados de lúpulos;
- Esterilizar o mosto;
- Coagular material proteico e formar complexos com polifenóis (trub);
- Formar cor e sabor característicos;
- Concentrar o mosto por evaporação;
- Evaporar as substâncias voláteis;

Figura 12 – Isomerização das humulonas para produção dos iso- α -ácidos no mosto

R=	α -acids	<i>cis/trans</i> -iso- α -acids
-CH(CH ₃) ₂	cohumulone	isohumulone
-CH ₂ CH(CH ₃) ₂	humulone	isocohumulone
-CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	adhumulone	isoadhumulone

Fonte: Adaptado de Jaskula et al. (2008).

3.3.5. Whirlpool e resfriamento

O *whirlpool* é um equipamento que funciona por ação da força centrípeta. O mosto, após a etapa de fervura, é bombeado de modo tangencial no *whirlpool*, impondo um fluxo de forma circular, sendo o *trub* separado por diferença de densidade (MUNROE, 2006a). Após a separação do *trub* no *whirlpool*, o mosto é resfriado rapidamente até a temperatura de fermentação, processo realizado em trocadores de calor, sendo o mais comum o de placas (KUNZE, 2014).

Em processo artesanal, o mosto é resfriado com uma serpentina (*chiller*) e em seguida, é agitado de forma circular vigorosamente para o *trub* se posicionar na parte central no fundo do recipiente, separando-o de forma similar ao processo industrial (DISLAKEN, 2016).

O resfriamento deve ser realizado de forma mais rápida possível até a temperatura de inoculação da levedura. Pode-se também realizar a aeração do mosto antes da inoculação da levedura, reduzindo a fase *lag* do processo fermentativo e melhorando a adaptação do micro-organismo ao meio.

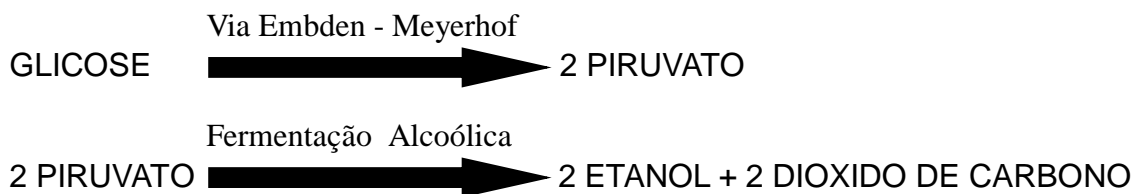
3.3.6. Fermentação

O mosto rico em açúcares, “esterilizado” e à temperatura de inoculação da levedura, é então submetido ao processo de fermentação. Como em todo produto fermentado, essa é a principal etapa do processo produtivo, onde ocorrem as principais alterações químicas, como a formação de etanol e de diversos subprodutos do metabolismo da levedura, que farão parte do sabor e aroma da cerveja (OLANIRAN; MAHARAJ; PILLAY, 2011).

Por se tratar de um micro-organismo anaeróbio facultativo, no início do processo, o oxigênio dissolvido no mosto auxilia no processo de adaptação da levedura ao meio, favorecendo o crescimento celular dos micro-organismos com formação de CO₂ e água. Tem-se assim o processo de respiração, que acontece por meio da via glicolítica, seguida do ciclo de Krebs (BRIGGS et al., 2004).

Com o esgotamento do oxigênio, a levedura passa a atuar em anaerobiose. A principal via bioquímica para uma célula de levedura produzir energia na ausência de

oxigênio é a fermentação alcoólica (PRIEST; STEWART, 2006). Neste processo, ao final da via glicolítica, o piruvato é convertido em etanol e CO₂.



Durante o processo fermentativo, além do álcool, há vários outros compostos que são formados por vias metabólicas secundárias. Podem ser excretados, durante a fermentação, álcoois, ésteres, aminas, ácidos orgânicos, fenóis, compostos de enxofre, compostos carbonílicos, entre outros (VANBENEDEN et al., 2008).

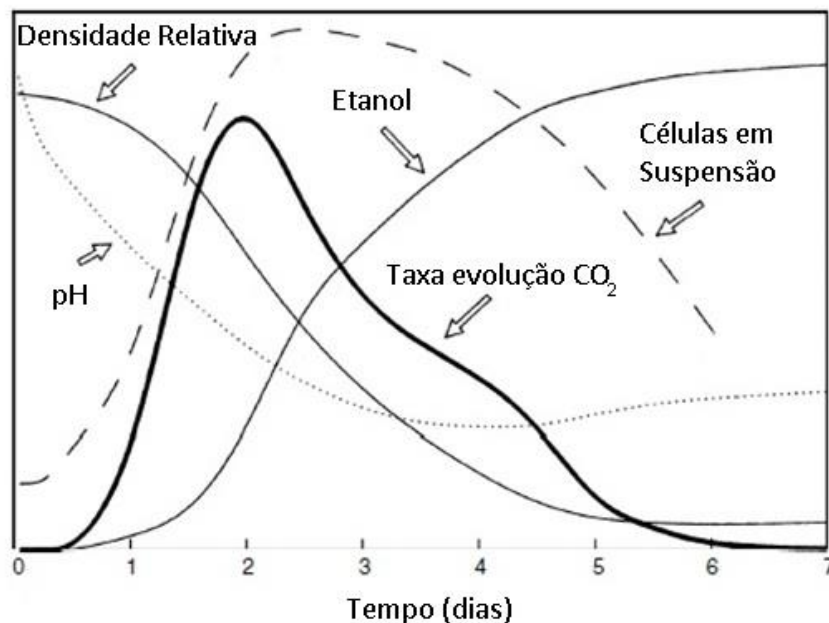
Os álcoois superiores podem ser formados pela síntese de carboidratos do mosto ou então como subprodutos da assimilação de aminoácidos. Os ésteres por sua vez são compostos formados em uma reação de condensação de um álcool superior e uma acetil coenzima A ativada. Pode-se encontrar mais de 100 tipos de ésteres diferentes na cerveja, os quais estão correlacionados ao sabor frutado/floral da bebida (LIU, 2015).

Os compostos carbonílicos são outros presentes em grande diversidade na cerveja (DASARI; KÖLLING, 2011). A concentração de aldeídos e de dicetonas vicinais é influenciada pelo metabolismo da levedura. São compostos que conferem características, de modo geral, indesejáveis à cerveja, como sabor de manteiga, de papel/papelão, de metal, entre outros (LEÇA et al., 2015). Os mesmos devem ser controlados, para estarem presentes somente em níveis aceitáveis no produto final.

Vários fatores podem influenciar a produção e a proporção de cada metabolito presente na cerveja, tais como a cepa de levedura, a temperatura de incubação, a quantidade e o tipo do adjunto, o pH e a densidade do mosto, a presença de oxigênio, entre outros (LEI; ZHAO; YU, 2012). O conhecimento do metabolismo da levedura é importante para se obter um produto com as características desejadas.

De modo geral, na maior parte das cervejarias artesanais, o processo cervejeiro é realizado em batelada. Neste modo de condução, as células são inoculadas no fermentador com o mosto em uma concentração de substrato já definida para o processo (KUGELMEIER et al., 2013). As leveduras utilizadas passam por todas as etapas de desenvolvimento de micro-organismos: lag, exponencial, estacionária e declínio (Figura 13).

Figura 13– Cinética da fermentação de cerveja



Fonte: Adaptado de Munroe (2006a).

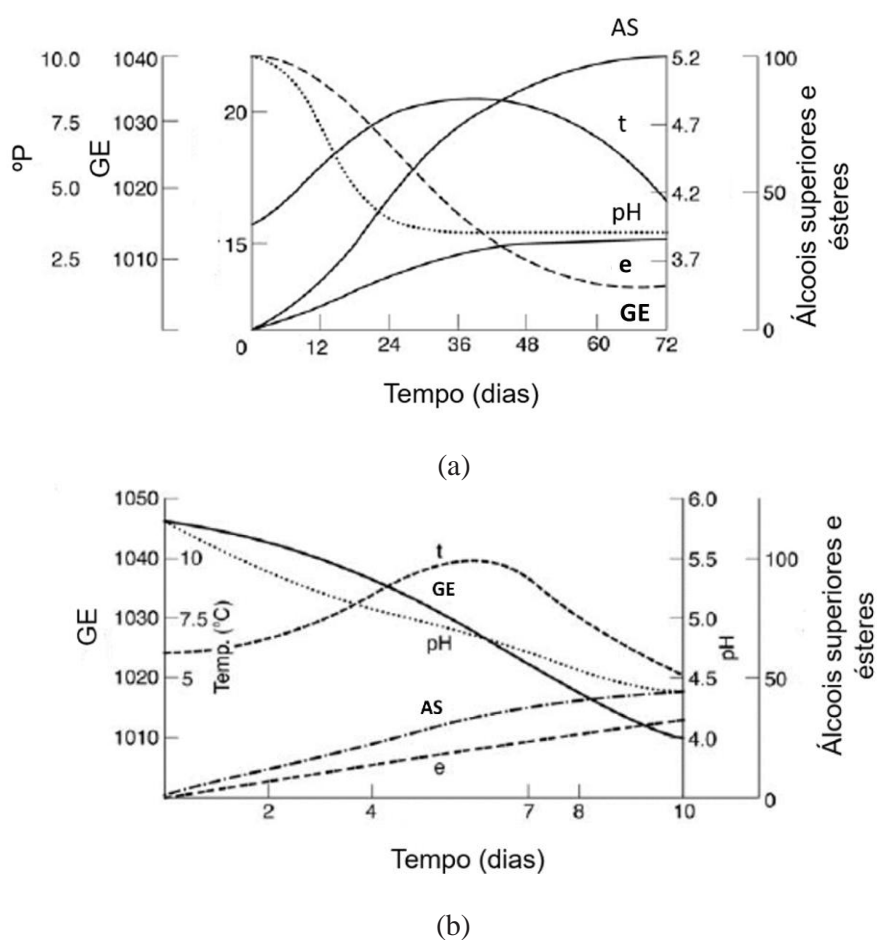
A inoculação do micro-organismo se dá geralmente na ordem de 10^7 células por mililitro (CARVALHO; ZAMBAZI, 2011). No começo do processo, os micro-organismos irão se adaptar ao meio rico em nutrientes e produzir as enzimas necessárias para utilizar os nutrientes disponíveis (fase denominada de lag). Logo em seguida, há uma pequena fase de transição e o micro-organismo entra em fase de crescimento exponencial, que se dá devido à presença de nutrientes em concentrações adequadas no mosto. Com o passar do tempo, devido ao esgotamento de nutrientes ou por inibição pelo produto formado, a taxa de crescimento vai diminuindo chegando à fase estacionária (LIVENS, 2016).

Com o aumento das condições não favoráveis, a taxa de crescimento de leveduras começa a diminuir, chegando à última fase da curva de crescimento do micro-organismo, de declínio, fase em que a taxa de crescimento é menor que a taxa de morte de células (LIVENS, 2016)

Em relação ao produto, tem-se a produção de álcool (metabólito primário) acompanhando o crescimento da levedura. Logo, a maior taxa de produção de etanol ocorre no período de crescimento exponencial do micro-organismo (MUNROE, 2006a).

Para a cerveja, pode ser diferenciado ainda o processo fermentativo das ale e lager. De modo geral, a fermentação que ocorre em temperaturas mais elevadas propicia a maior formação de metabólitos secundários, enquanto em uma fermentação em temperaturas mais baixas há uma menor produção dos mesmos (HIRALAL; OLANIRAN; PILLAY, 2014). A Figura 14 mostra a quantidade existente destes compostos ao longo da fermentação de cerveja ale e lager.

Figura 14 – Alterações no nível de álcoois superiores e ésteres ao longo da fermentação de ale (a) e lager (b)



Fonte: Adaptado de (BRIGGS et al., 2004)

Em que: “GE” significa gravidade específica, “AS” significa álcoois superiores, “e” significa ésteres e “t” significa temperatura.

É possível perceber a menor formação de álcoois superiores e ésteres na cerveja lager, um estilo que se caracteriza por um sabor mais neutro e pouco sabor proveniente da levedura.

3.3.7. Maturação

Ao final da fermentação, a levedura que se acumulou na dorna ao longo do processo é separada da cerveja, que é resfriada a temperaturas mais baixas para que ocorram as alterações necessárias.

Durante a maturação, pode ocorrer uma fermentação secundária (prática nem sempre utilizada), para atenuação final de carboidratos fermentescíveis e formação de CO₂ e outros compostos desejáveis e um condicionamento da cerveja a baixas temperaturas (OLIVER, 2011).

Essas condições promovem alterações importantes em compostos responsáveis por sabor e aroma da bebida. Por exemplo, o diacetil e a 2,3-pentanodiona (dicetonas vicinais), compostos indesejáveis em cervejas lagers, podem ser encontrados em maior quantidade em ales, sendo parte do sabor característico (DUONG et al., 2011).

Ao longo da maturação, ocorre a reassimilação do diacetil pela levedura, que é reduzido enzimaticamente para butanodiol, composto que não tem praticamente nenhum impacto no sabor. Além disso, pode ser estimulada a conversão dos precursores de diacetil para sua posterior degradação, por meio da elevação da temperatura a aproximadamente 15 °C, o que acelera o processo de eliminação do diacetil na cerveja (DASARI; KÖLLING, 2011).

Os compostos de enxofre sofrem alterações ao longo do processo de maturação: geralmente, as concentrações indesejáveis de sulfeto de hidrogênio são reduzidas durante os períodos de armazenamento a frio entre 5 a 7 dias (MUNROE, 2006b).

Os acetaldeídos, compostos indesejáveis em altas concentrações, também são reduzidos ao longo da maturação: em um processo comum, o nível destes compostos diminuirá para concentrações entre 2 a 7 mgL⁻¹ (RODMAN; GEROGIORGIS, 2016).

Além das alterações que acontecem naturalmente no processo de maturação, outras modificações podem ocorrer devido a adição de substâncias à cerveja: a cor pode ser ajustada, usando corante caramelo; o amargor alterado pela utilização de extratos de

lúpulo isomerizados (REBELLO, 2009); e o aroma e o sabor, por meio do processo de lupulagem a frio (*dry-hopping*).

A técnica de *dry-hopping* consiste na adição de lúpulo ao longo do processo de maturação da cerveja. Esta prática é originária da Inglaterra e seus primeiros registros se dão no século 19. Esta técnica era utilizada principalmente com o intuito de fornecer o aumento da estabilidade microbiológica da cerveja, contudo, não foi muito difundida e absorvida entre as cervejarias do mundo. Com o aparecimento e sucesso dos cervejeiros artesanais americanos, “Craft Brewers”, e a busca destes por produtos com mais aromas, o *dry-hopping* voltou a ser utilizado, tornando-se prática comum dentre os cervejeiros artesanais do mundo inteiro (MITTER; COCUZZA, 2013; SCHÖNBERGER, 2012).

A maturação também proporciona a clarificação da cerveja, por meio da precipitação de leveduras, de proteínas e demais sólidos insolúveis. A maturação inicialmente ocorria durante meses. Com o desenvolvimento de tecnologias, o processo pode ser finalizado em 15 dias satisfatoriamente (YAMAUCHI et al., 1995).

O processo de maturação pode ser simplificado como um processo de arredondamento do aroma e sabor da cerveja. Nesta etapa, a cerveja “verde” proveniente da fermentação sofre alterações que promovem a redução de compostos indesejáveis tornando a cerveja final “madura” (BRIGGS et al., 2004).

Ao término da maturação, ainda são necessárias algumas etapas para finalizar a cerveja, como a clarificação, com intuito de remover partículas suspensas, a carbonatação, para ajustar o nível de gás carbônico dissolvido, o envase em recipientes apropriados e a pasteurização, caso necessária.

3.3.8. Clarificação

Alguns compostos que causam turbidez à bebida ainda estão presentes na cerveja, ao final da maturação. Caso seja desejável a clarificação, o processo pode ser realizado por diferentes técnicas, que podem ser usadas de forma única ou em conjunto com outras. Entre estas técnicas estão: sedimentação por gravidade, uso de clarificantes, centrifugação e filtração (FILLAUDEAU et al., 2007).

A clarificação por sedimentação é uma técnica bastante simples, porém pouco eficiente. A cerveja armazenada em baixas temperaturas propicia a floculação de compostos insolúveis na mesma (GASSARA et al., 2015).

Para facilitar este processo, são utilizados agentes clarificantes, compostos que se aderem às proteínas facilitando a floculação de complexos insolúveis presentes na cerveja. Um dos principais agentes clarificantes utilizados é a sílica gel. Em cervejarias artesanais, o uso de gelatina incolor é uma prática comum (GOULART et al., 2011).

Outro composto muito usado é o polivinilpolipirrolidona (PVPP), que tem a capacidade de adsorver taninos e polifenóis presentes na cerveja, que poderiam se complexar com proteínas causando turvação.

Para melhorar a estabilidade coloidal da cerveja, pode-se usar PVPP e sílica gel em conjunto, uma vez que a atuação da sílica gel é sobre as proteínas presentes no mosto. Pode-se empregar ainda enzimas proteolíticas, bentonite, ácido tânico, proteínas de alto peso molecular e outras substâncias para evitar a turvação da cerveja, pois todas possuem atuação sobre as proteínas ou sobre os polifenóis presentes na bebida.

Processos mais complexos, como filtração e centrifugação do mosto, também podem ser utilizados para incrementar a separação das substâncias que causam turbidez (ALICIEO et al., 2008).

3.3.9. Carbonatação

O dióxido de carbono (CO_2) é muito importante na cerveja, pois afeta diretamente a percepção sensorial. Encontra-se, geralmente, em quantidades entre 1 a $1,15 \text{ Kg hL}^{-1}$ de CO_2 dissolvido na bebida. A quantidade de CO_2 dissolvida segue a lei de Henry, que diz que, a uma dada temperatura, a solubilidade de um gás dissolvido em um líquido é diretamente proporcional à pressão parcial do gás acima do líquido (POSTULKOVA et al., 2016). Logo, o teor de CO_2 dissolvido na cerveja depende da pressão e da temperatura da mesma.

De forma geral, após a maturação, todos os processos são realizados buscando preservar o CO_2 dissolvido. Porém, normalmente é necessário realizar um ajuste no teor de CO_2 para que a cerveja apresente carbonatação adequada. Este ajuste é feito por injeção de CO_2 na linha de processo, utilizando diferentes formas de gaseificação (MUNROE, 2006a).

Algumas microcervejarias e cervejarias artesanais utilizam ainda o processo denominado de “priming” (PALMER, 2006b), que consiste na adição de açúcar na cerveja engarrafada não pasteurizada. A cerveja sofrerá nova fermentação, que produzirá o CO₂ desejável para a bebida.

Outros gases podem ainda ser adicionados à cerveja, e o mais comum é a adição de nitrogênio, que altera a característica de formação de espuma da bebida.

3.3.10. Pasteurização

A pasteurização é um método de conservação de alimentos por meio de aquecimento moderado (abaixo de 100 °C) por determinado tempo. Esta técnica visa eliminar possíveis micro-organismos patogênicos do produto, bem como reduzir a carga de micro-organismos contaminantes (GAVA, 2010).

Para a cerveja, a etapa de pasteurização não é obrigatória, sendo possível comercializá-la sem que esteja pasteurizada, desde que os cuidados apropriados, bem como boas práticas de higiene e qualidade, sejam mantidas ao longo do processo e o tempo para o consumo esteja bem informado na embalagem (CARVALHO, 2007).

A pasteurização da cerveja propicia um aumento na vida útil e maior estabilidade do produto, embora ocorram algumas alterações sensoriais provenientes do seu aquecimento (CARVALHO, 2007). No processo de fabricação, esta etapa pode ocorrer antes ou após o envase. Para cervejas acondicionadas em barril, se utiliza a pasteurização antes do envase, denominada de pasteurização “flash”. Para cervejas acondicionadas em latas ou garrafas, é utilizada, mais comumente, a pasteurização pós-envase (KUNZE; WAINWRIGHT, 1996).

A pasteurização “flash” é uma técnica em que a cerveja é aquecida a temperaturas mais elevadas, em torno de 70°C por alguns segundos, e em seguida, resfriada e acondicionada em barris. Para isto, são utilizados trocadores de calor de placas para promover um rápido aquecimento e resfriamento do líquido (STORGARDS, 2000).

A pasteurização com a cerveja já dentro dos recipientes é realizada em túnel. Neste processo, as garrafas ou latas passam por um túnel, onde inicialmente é borrifada água quente para promover o aquecimento lento da bebida até temperatura em torno de 65 °C, mantendo esta condição por alguns minutos. Em seguida, é borrifada água fria

para promover o resfriamento. Este processo é mais lento, pois a troca térmica é dificultada pelo volume de líquido e pela embalagem (DUNN, 2006).

3.3.11. Envase

A cerveja pode ser armazenada em diferentes recipientes, e os mais comuns são latas, garrafas e barris (FETTERS, 2006). O uso de cada um destes depende da escolha da empresa e/ou da aceitação do consumidor. Em relação à garrafa, deve-se ter o cuidado com a exposição da mesma à luz (GROS; COLLIN, 2012). O mais aconselhável é a utilização de garrafa âmbar. Produtos armazenados em recipientes claros podem sofrer oxidação, sendo que, para evitar este tipo de problema, faz-se a utilização de lúpulos especiais para este fim (KOLPIN; SHELLHAMMER, 2009).

3.4. Avaliação e controle de qualidade da cerveja

3.4.1. Análises físico-químicas

Ao longo do processo de produção, podem ser realizadas várias análises para controlar a qualidade do produto, desde a qualidade da água e do grão de cevada até a avaliação da embalagem e do produto final. Em relação à cerveja, existem duas instituições que padronizam de forma geral as análises a serem realizadas: a *European Brewery Convention* (EBC), e a *American Society of Brewing Chemists* (ASBC).

Dentre as várias análises, podem ser efetuadas desde a mensuração do pH como a quantificação de compostos químicos por cromatografia. Na rotina da cervejaria, pode-se descrever como as principais análises realizadas os teores de extrato (primitivo ou original, aparente e real), a atenuação (real e aparente), a cor, o pH, a turbidez, o teor alcoólico e o amargor da cerveja.

3.4.2. Análise Sensorial

A avaliação sensorial é a aplicação do conhecimento e experiência em diversas disciplinas científicas como a estatística, a fisiologia, o comportamento humano, entre outras, e utilizam os sentidos humanos como “instrumentos” de medida. A avaliação sensorial deve fazer parte da garantia de qualidade do produto, por determinar importantes aspectos sobre o mesmo, como as características, a qualidade e a aceitação do produto por parte dos consumidores.

Estas análises podem ser mais elaboradas, com inferência estatística, ou por meio de degustações mais simples, com intuito de verificar as características e/ou a aceitabilidade do produto.

De uma forma geral, ao degustar uma cerveja, alguns aspectos devem ser considerados, como a aparência, o aroma, o sabor e as sensações bucais.

Em relação à aparência, observa-se: a) a cor da cerveja, que varia de acordo com o estilo desejado; b) a turbidez, que está geralmente ligada a clarificação da cerveja, podendo ser translúcida ou turva; c) a espuma, sendo o tamanho das bolhas, a altura, a cor e a estabilidade os aspectos a serem observados.

Extremamente importantes na avaliação da cerveja, diversos odores e aromas podem ser percebidos, alguns provenientes dos maltes utilizados, do lúpulo, e/ou formados durante a fermentação. Como exemplos, podem ser encontrados aromas herbais, frutado ou de caramelo, banana, cravo, pão, café chocolate, entre outros. Cada aroma denota uma característica específica, e varia de acordo com o estilo de cerveja que está sendo degustado.

Ao ingerir a cerveja, podem ser percebidos os gostos básicos, as sensações bucais e o sabor da bebida. Os gostos básicos são o amargo, o doce, o salgado, o ácido e o umami, sendo os mais facilmente observados o amargor, a doçura e a acidez. As sensações bucais, percebidas na boca, geralmente estão associadas às características físicas e químicas dos produtos, como o metálico, que é a sensação de metal na cavidade da boca e/ou o pungente, sensação causada devido a carbonatação da bebida. Ainda podem ser percebidas características adstringente, alcoólica, entre outras.

Por fim, na boca, pode-se perceber questões táteis, como o corpo da bebida, relacionado diretamente à viscosidade da mesma, e os sabores, que englobam os aromas, gostos e sensações bucais. Estes, assim como os aromas, podem ser distintos, e

provenientes de diferentes etapas do processo, denotando, desta forma, as características de cada bebida.

3.5. Alternativas ao lúpulo

Ao longo do desenvolvimento cervejeiro, inúmeras inovações foram, e ainda são, pesquisadas, testadas e implementadas visando incrementar avanços tecnológicos neste setor industrial.

Com o surgimento e consolidação do segmento de cervejas artesanais (*Craft Brewing*) - que carrega em si um diferencial inovativo - a busca por uma diferenciação, o uso de técnicas e tecnologias alternativas e por ingredientes alternativos para a produção de cerveja tem se intensificado.

Várias pesquisas tem sido realizadas visando avaliar processos inovadores no setor cervejeiro, sejam inovações tecnológicas (DONG et al., 2014; LEI et al., 2016), busca por adjuntos alternativos (CARVALHO et al., 2009; POREDA et al., 2014; ZHANG et al., 2017) ou desenvolvimento de novas variedades de lúpulo e cevada (PAL; KUMAR; VERMA, 2012; VAN OPSTAELE et al., 2013).

No entanto, poucos estudos foram realizados avaliando a substituição do lúpulo. Por ter como principais características sensoriais promover o amargor na cerveja, a utilização de outras substâncias amargas surge como uma alternativa à substituição (parcial ou total) do lúpulo no processo cervejeiro.

Aniche e Uwakwe (1990) avaliaram o potencial de utilização de *Garcinia kola* como substituto do lúpulo em cervejas lager, obtendo cervejas sensorialmente bem aceitas e com características físico-químicas semelhantes à cerveja padrão.

Adenuga, Olaleye e Adepoju (2010) avaliaram o uso dos extratos de *Gongronema latifolium*, *Vernonia amygdalina* e *Garcinia kola* como potenciais substituintes de lúpulo em cervejas de sorgo, obtendo cerveja com aceitação sensorial próxima ou maior do que a encontrada na cerveja padrão.

O Brasil é um país com uma rica biodiversidade e um clima favorável ao cultivo de várias espécies. Dentre estas, existem as plantas amargas, que tem comercialização bem difundida em feiras e mercados, sendo utilizadas na forma de chá com cunho medicinal. Como exemplo, pode-se citar a carqueja, a alcachofra, a quina, a quassia (pau-tenente) e o guatambu.

3.5.1. Carqueja

Baccharis é um gênero de planta de grande importância, compreendendo uma variedade de espécies que são popularmente denominadas de carqueja (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000). É uma planta nativa das regiões Sul e Sudeste do Brasil, podendo ser encontrada também na Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai (BONA et al., 2002).

Esta planta está geralmente ligada a várias funções farmacológicas, como por exemplo, distúrbios da digestão (BRASIL, 2010), atividade anti-inflamatória e analgésica (GENÉ et al., 1996), antimutagênica (LORENZI; MATOS, 2002), entre outras.

Tais funções estão diretamente ligadas à presença de flavonoides, terpenos e outros compostos (BELTRAME et al., 2009). Vários flavonoides foram isolados em diferentes espécies de carqueja e, dentre eles, podemos citar o canferol, o eriodictol, a quercitina e a eropiacina (SILVA et al., 2006). Os compostos encontrados, bem como a sua concentração variam de acordo com a espécie, safra e local de cultivo.

Além dos flavonoides, também foram isolados de variedades de carqueja outros compostos, como os óleos essenciais acetato de carquejol, carquejol, nopineno, α e β cardineno, calameno, eledol e eudesmol (TESKE; TRENTINI, 1997), diterpenos, ácidos cafeicos, lactonas diterpênicas e estigmasterol (BRASIL, 2010).

Outro fator importante é que o consumo de carqueja, em doses usuais, durante períodos não prolongados, não mostrou efeito adverso e/ou tóxico, sendo a mesma contraindicada apenas para gestantes, devido à estimulação do músculo uterino (ALONSO J. R., 1998).

3.5.2. Alcachofra

Cynara scolymus L., conhecida popularmente como alcachofra, é uma planta do gênero *Asteraceae*, de origem do Oriente Médio e trazida ao Brasil por imigrantes europeus (COSTA et al., 2009). A planta possui utilização alimentar, medicinal e na indústria de bebidas (MARTIN BAUER GROUP, 2016).

Estudos relatam que os extratos de alcachofra apresentam atividades hepatoprotetora, hipolipidêmica, antioxidante, entre outras (ERNST, 1995; FINTELMANN, 1996; KRAFT, 1997).

A alcachofra possui como principais componentes químicos presentes nas folhas ácidos fenólicos, flavonoides e sesquiterpenos. Além disso, a cinarina (ácido monocafeoilquínico) é relatada como o principal princípio ativo da planta (NOLDIN et al., 2003).

3.5.3. Quina

Bathysa cuspidata é uma planta que ocorre naturalmente no Brasil, no Peru e na Bolívia (FROUFE, 2015). Este gênero de plantas é representado por cerca de 15 espécies, dentre árvores, arbustos, que podem chegar a 15 m (GERMANO FILHO, 1999). Essa planta é popularmente conhecida no Brasil como quina ou quina-do-mato (COSENZA et al., 2013).

Geralmente, a parte utilizada desta planta são as cascas e está correlacionado a usos medicinais, especialmente ligados ao estômago e fígado (BOTSARIS, 2007; GONÇALVES et al., 2012).

3.5.4. Pau tenente

Quassia amara L é um arbusto, que pode chegar a 7 metros de altura, conhecida popularmente como pau tenente, quassia amarga, entre outros (SILVA, 2015). É uma planta típica do Brasil, podendo ser observada em toda América Latina (MACEDO; POTIGUARA; NETO, 2005).

O uso da quassia está relacionado a medicina popular, em enfermidades no fígado, estômago, cefaleia, manchas na pele, entre outros (SILVA, 2015). Também tem potencial correlacionado ao tratamento de diabetes (BIESKI et al., 2012).

Esta planta é caracterizada por ter intenso sabor amargo, podendo ser considerado cerca de 50 vezes maior que o quinino (HUSAIN et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2014). E não possui toxicidade.

Vários compostos químicos já foram isolados dos extratos de pau-tenente, dentre os quais estão presentes alcaloides, esteroides e os quassinoides. Dentre estes, os

quassinoides (como a quassina, neoquassina, simalicalactona, picrassins) são os mais característicos destas plantas, estando correlacionadas a algumas das propriedades medicinais descritas acima (FURLAN et al., 1994).

3.5.5. Guatambu

Guatambu é o nome popular de várias plantas do gênero *Aspidosperma*, também conhecidas por outros nomes populares, como pau pereira, peroba e guatambu amarelo (PAIVA JÁCOME et al., 2004).

O uso comum desta planta também se dá por meio de chá feitos a partir da casca da planta, possuindo alegações na medicina popular no tratamento de enfermidades como reumatismo e diabetes (GUARIM-NETO, 2006).

Estas alegações medicinais estão diretamente correlacionadas a presença de compostos químicos como alcaloides, hidrocarbonetos monoterpênicos e sesquiterpenos, como o alcaloide indólico β -ioimbina, correlacionado ao tratamento de diabetes, depressão e impotência sexual (BARBOSA et al., 2003).

No mais, em um estudo sobre a toxicidade do guatambu, Santos et al. (2009) afirmam que as preparações domésticas tem relativa segurança, chegando a uma dose segura de 210 mg/70 kg/dia.

4. METODOLOGIA

O malte pilsen (Agrária®, Brasil), o lúpulo Saaz, (Barth-Hass Group®, Alemanha) a levedura saflager S-23 (Fermentis®, França) e as plantas amargas foram adquiridos em comércio local e encaminhados ao laboratório de Bioprocessos do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, Campus de São José do Rio Preto, onde se procedeu a análise.

Foram utilizados partes vegetais secas das respectivas plantas, de acordo com seu uso popular, ou seja, para carqueja e alcachofra utilizou-se folhas e caule, para o pau tenente parte do caule (lenho), para quina e guatambu utilizou-se a casca do caule.

4.1. Caracterização das plantas amargas

A caracterização das plantas amargas foi realizada a partir do extrato aquoso das plantas, os quais foram preparados simulando o processo de fervura do mosto cervejeiro. Ou seja, as partes vegetais das plantas ficaram em infusão com água em ebulição por 60 minutos. Após isto, os extratos foram filtrados, resfriados e se procederam as análises.

4.1.1. Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados de acordo com o método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965) com modificações realizadas por Zhao et al. (2010).

O método consiste em utilizar 0,5 mL de cerveja diluída onde são adicionados 2,5 mL de Folin-Ciocalteu diluído 10 vezes, reagir por 5 minutos, então adicionar 2 mL de carbonato de sódio a 7,5 % e completar com água deionizada até atingir o volume de 10 mL. Após 1 hora de repouso em temperatura ambiente, realizar a leitura a 760 nm. A medição então é comparada com uma curva padrão de ácido gálico e o resultado expresso em mg de ácido gálico equivalente (GAE) por litro de cerveja (mg GAEL⁻¹).

4.1.2. Atividade Antioxidante

4.1.2.1. DPPH

A atividade antioxidante pelo método DPPH foi realizada segundo metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). A amostra e a solução DPPH foram misturadas e deixou-se reagir por 60 minutos. Em seguida, a atividade antioxidante foi medida por espectrometria a 515 nm.

4.1.2.2. ABTS

A atividade antioxidante pelo método ABTS foi determinada de acordo com metodologia proposta por Re et al. (1999) e modificada por Kuskoski et al. (2003). A amostra é misturada a solução ABTS e deixa-se reagir por 30 minutos. Em seguida, a atividade antioxidante é medida por espectrometria a 754 nm.

4.1.3. Atividade Antimicrobiana

A determinação da atividade antimicrobiana foi realizada utilizando a metodologia de microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (SANTURIO et al., 2007).

Foi avaliado o efeito antimicrobiano das 5 plantas amargas a *E. coli* (ATCC 8739), *S. typhimurium* (ATCC 14028) (ATCC 25923), *L. rhamnosus* (ATCC 7469) e *S. cerevisiae* (Saflager S-23, Fermentis®). As culturas foram mantidas em Ágar Padrão para Contagem (PCA) a 4 °C, e reativadas no mesmo meio de cultura, com incubação a 35 °C por 24 horas.

A contagem bacteriana foi padronizada de acordo com a escala 0,5 de Mc Farland, proporcionando uma concentração de 10^8 UFC/mL (ALVES et al., 2008), e a contagem da levedura foi padronizada por meio de contagem em câmara de Neubauer à concentração de 10^8 células/mL (ALCÂNTARA; MENEZES, 2017).

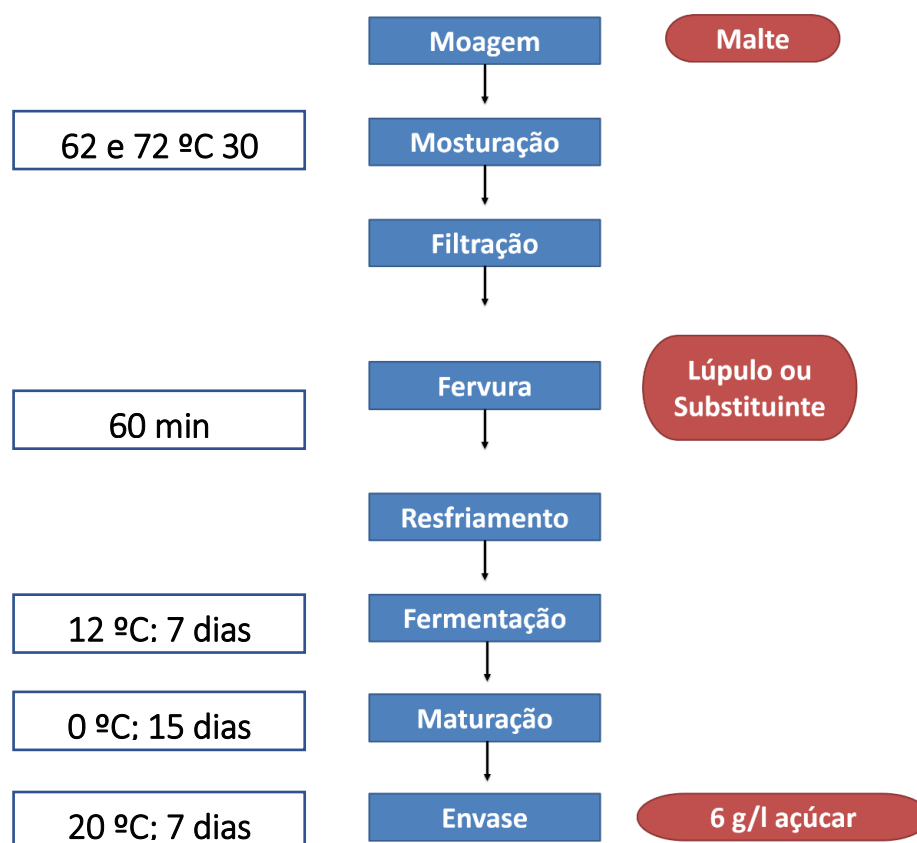
Para a determinação da concentração inibitória mínima, foram preparadas infusões aquosas das 5 plantas empregadas neste estudo em diferentes concentrações (0 – 20 gL^{-1}), simulando processo de mosturação da cerveja (60 minutos em fervura).

A técnica constitui em distribuir nos diferentes poços da placa de microtitulação 200 μL de Caldo Muller-Hinton e 200 μL das infusões aquosas das ervas, nas quais foram inoculados 10 μl da suspensão microbiana em cada poço. As microplacas eram incubadas a 35 $^{\circ}\text{C}$ / 24h, em condições de aerobiose. A determinação das concentrações inibitórias mínimas consistiu em examinar as placas, registrando-se a menor concentração da infusão capaz de causar inibição total do crescimento.

4.2. Produção das Cervejas

A elaboração das cervejas foi realizada como descrita na Figura 15. O malte foi moído e, em seguida, introduzido na panela de mosturação juntamente com a água, na proporção de 1:3, ou seja, para cada parte de malte, foram adicionadas 3 partes de água.

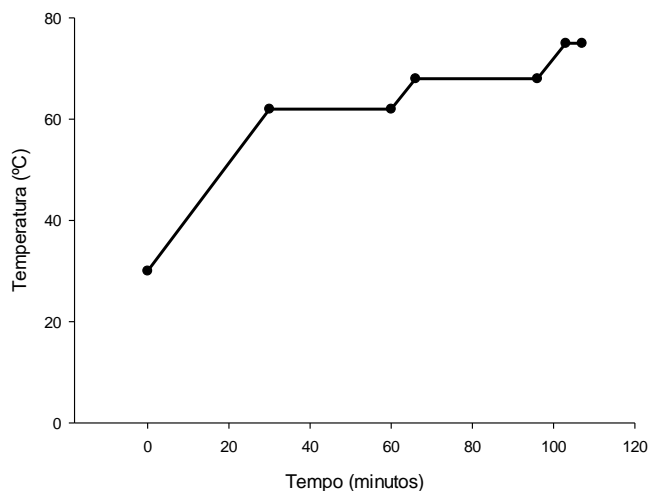
Figura 15 – Fluxograma da fabricação da cerveja



Fonte: Elaborada pelo autor.

A mosturação foi realizada pelo processo de infusão múltipla (Figura 16) e, ao final do processo, foi realizado o teste de iodo para verificar a sacarificação do amido.

Figura 16 - Curva de mosturação utilizada no experimento.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Finalizada a mosturação, o mosto foi filtrado na própria panela de mosturação, em que a casca do malte foi utilizada como camada filtrante. Ao finalizar a filtração do malte, adicionou-se água à mesma temperatura do sistema sobre a camada filtrante, com intuito de retirar todo açúcar retido. O caldo resultante foi adicionado junto ao filtrado e levado à fervura.

O processo de fervura é a fase do processamento em que foi adicionado o lúpulo, ou seus substituintes. Todo o lúpulo ou respectivo substituinte foram adicionados no início do processo de fervura. O processo durou 60 minutos. Em seguida, o mosto foi resfriado rapidamente até a temperatura de inoculação e passou por agitação circular, para promover a precipitação de algumas proteínas. Ao final desse processo, foi retirado o “*trub*” e o mosto inoculado foi levado à fermentação.

A fermentação ocorreu por 7 dias, em dornas plásticas com capacidade para 10 litros e temperatura de 12 °C. Ao final da fermentação, foi realizado o processo de maturação por 15 dias a 0 °C.

Ao término da maturação, as cervejas foram acondicionadas em garrafas de vidro, juntamente com uma solução de açúcar de 6 gL⁻¹ e mantidas por 7 dias a 20 °C para que ocorresse a carbonatação do produto. Ao final deste processo, foram realizadas as análises da cerveja.

4.3. Estimativa da melhor concentração de cada substituinte

Foram definidas por meio de pré-testes sensoriais, as concentrações aproximadas de cada planta, nas quais se obtinha uma cerveja com amargor próximo ao encontrado nas cervejas *American lager* de consumo comum no mercado brasileiro.

A partir disto, estipulou-se uma faixa de concentração, para avaliação da melhor concentração a ser utilizada. As seguintes condições foram definidas: a) concentração de carqueja de 1 a 5 gL⁻¹; b) concentrações de alcachofra de 1 a 5 gL⁻¹; c) concentração de quina de 0,1 a 0,5 gL⁻¹; d) concentração de guatambu de 0,1 a 0,5 gL⁻¹; e) concentração de pau tenente de 0,1 a 0,5 gL⁻¹.

4.4. Análises Físico-químicas das cervejas

4.4.1. Teor alcoólico

O teor alcoólico foi determinado de acordo com metodologia EBC 9.2.3 (EBC, 2010). Este é expresso por meio da leitura da densidade de uma amostra de cerveja submetida ao processo de destilação.

4.4.2. pH

O pH foi determinado pelo método eletrométrico utilizando um pHmetro de bancada, sendo o pH medido em amostras de 10 ml de cerveja (IAL, 2005).

4.4.3. Cor

A análise da cor da cerveja é feita, de forma geral, por leitura direta em espectrofotômetro. Existem duas escalas padrões para cor da cerveja, uma escala é a EBC, utilizada pela *European Brewery Convention*, e outra a SRM, pela *American Society of Brewing Chemists*. Neste trabalho, a cor da cerveja foi determinada de acordo com metodologia EBC 9.6 (EBC, 2010).

4.4.4. Amargor

O amargor das amostras foi determinado por espectrometria, de acordo com metodologia EBC 9.8 (EBC, 2010). Os iso- α -ácidos presentes na cerveja foram extraídos com isoctano em meio acidificado, sendo avaliados por leitura em espectrofotômetro a 275nm. O amargor da cerveja é expresso geralmente utilizando a escala IBU (International Bitterness Unit).

4.4.5. Turbidez

A turbidez foi determinada por leitura da amostra desgaseificada em turbidímetro, de acordo com metodologia EBC 9.2.9 (EBC, 2010).

4.4.6. Extrato Original

O extrato original ou primitivo é o teor de açúcar presente no mosto antes do processo fermentativo. O mesmo foi determinado por meio de leitura direta em densímetro, conforme descrito na metodologia EBC 9.4 (EBC, 2010).

4.4.7. Extrato Aparente

O extrato aparente representa a quantidade de açúcar ainda presente ao final do processo, sendo avaliado na cerveja pronta. O mesmo foi determinado por meio de leitura direta em densímetro, conforme descrito na metodologia EBC 9.4 (EBC, 2010).

4.4.8. Atenuação Aparente

Determinado conforme método EBC 9.7 (EBC, 2010). A atenuação correlaciona a quantidade de açúcar inicial com a que foi consumida pela levedura no processo fermentativo, sendo expressa pela relação entre o extrato aparente e o extrato original.

4.5. Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (Ibilce) da Universidade Estadual Paulista. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do mesmo Instituto (parecer 1.412.736).

4.5.1. Aceitação sensorial

O teste de aceitação sensorial (REIS; MINIM, 2010) das cervejas foi realizado utilizando escala hedônica de 9 pontos (9 = gostei extremamente e 1 = desgostei extremamente) para avaliar os atributos aroma, sabor, cor e aceitação global (Figura 17). Juntamente a este foram avaliadas a intensidade de amargor, a intensidade de amargor ideal, e a intenção de compra.

Figura 17 - Ficha utilizada nos testes de aceitação sensorial

Nome: _____ Idade: ____ Sexo: ____ Data: _____									
Você esta recebendo uma amostra de cerveja. Por favor, avalie a amostra quanto aos itens apresentados no quadro, utilizando a escala abaixo:									
9 – Gostei extremamente 8 – Gostei muitíssimo 7 – gostei moderadamente 6 – gostei levemente 5 – nem gostei nem desgostei 4 – desgostei levemente 3 – desgostei moderadamente 2 – desgostei muitíssimo 1 – desgostei extremamente	AMOSTRA Nº: _____ <table border="1"> <tr><td>Cor:</td><td></td></tr> <tr><td>Aroma:</td><td></td></tr> <tr><td>Sabor:</td><td></td></tr> <tr><td>Aceitação global:</td><td></td></tr> </table>	Cor:		Aroma:		Sabor:		Aceitação global:	
Cor:									
Aroma:									
Sabor:									
Aceitação global:									
Como você considera a INTENSIDADE DE AMAGOR nesta amostra? <input type="checkbox"/> Nenhum <input type="checkbox"/> Fracamente detectável <input type="checkbox"/> Muito Suave <input type="checkbox"/> Suave <input type="checkbox"/> Suave-moderado <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Moderado-Forte <input type="checkbox"/> Forte	Quão ideal é a INTENSIDADE DE AMARGOR nesta amostra? <input type="checkbox"/> Extremamente mais intenso que o ideal <input type="checkbox"/> Muito mais intenso que o ideal <input type="checkbox"/> Moderadamente mais intenso que o ideal <input type="checkbox"/> Ligeiramente mais intenso que o ideal <input type="checkbox"/> Intensidade Ideal <input type="checkbox"/> Ligeiramente menos intenso que o ideal <input type="checkbox"/> Moderadamente menos intenso que o ideal <input type="checkbox"/> Muito menos intenso que o ideal <input type="checkbox"/> Extremamente menos intenso que o ideal								
Assinale para esta amostra qual seria sua intenção de compra: <input type="checkbox"/> Eu certamente compraria esta amostra <input type="checkbox"/> Eu provavelmente compraria esta amostra <input type="checkbox"/> Tenho duvidas se compraria esta amostra <input type="checkbox"/> Eu provavelmente não compraria esta amostra <input type="checkbox"/> Eu certamente não compraria esta amostra									
Comentários: _____									

Fonte: Adaptado de Reis e Minim (2010).

Participaram do teste 100 avaliadores não treinados que receberam sete amostras de forma monódica, codificadas com três dígitos e em ordem casualizada, e um copo com água, à temperatura ambiente, para enxaguar a boca antes de cada avaliação.

4.5.2. Perfil descritivo otimizado

O perfil descritivo otimizado (PDO) foi realizado seguindo metodologia proposta por Silva et al. (2013). Para realização desta metodologia, foram necessárias as etapas de: a) recrutamento e pré-seleção dos candidatos; b) levantamento dos termos descritivos; c) definição dos materiais de referência; d) familiarização da equipe de julgadores com as referências; e) avaliação dos produtos.

O recrutamento e pré-seleção dos julgadores foram realizados por meio de questionários estruturados, os quais visaram avaliar a disponibilidade de tempo dos avaliadores, condições de saúde, familiaridade com atributos sensoriais, familiaridade com o produto e habilidade em utilizar escalas (Apêndice A).

Em seguida, os candidatos recrutados foram selecionados de acordo com o poder discriminatórios do produto, por meio de teste triangular, utilizando duas cervejas comerciais distintas (cerveja Antártica Original e cerveja Heineken). Aqueles que obtiveram um êxito igual ou superior a 75% continuaram na equipe.

Foram selecionados 16 julgadores. Estes definiram os termos descritivos das cervejas por meio da técnica de lista prévia, tendo como base trabalhos descritivos de cerveja já realizados (MEILGAARD; DALGLIESH; CLAPPERTON, 1979), e, em sequência, foram os testados os materiais de referência para cada atributo (Tabela 3). Por fim, foi realizada a familiarização dos avaliadores com as referências e realizou-se a avaliação das amostras.

A avaliação das amostras foi realizada seguindo protocolo de atributo-por-atributo, na qual todas as amostras são apresentadas simultaneamente aos avaliadores juntamente com as referências. A avaliação se dá por meio de escala não estruturada de 9 cm conforme apresentado na Figura 18.

As avaliações foram conduzidas segundo o Delineamento em Blocos casualizados (DBC), de forma que todos os julgadores avaliaram todas as formulações.

Tabela 3– Lista dos termos descritivos e respectivas referencias

Termo Descritivo	Definição	Referencias
Cor da cerveja	Intensidade de cor da cerveja variando entre amarelo claro e escuro	Claro: proporção de 1/1 de cerveja Antártica original e água Escuro: Cerveja Corona.
Turbidez	Grau de opacidade da solução na qual não há transmissão de luz	Nenhum: Água. Forte: Suco concentrado de abacaxi da marca maguary.
Aroma oxidado	Aroma típico de cerveja envelhecida	Nenhum: Água. Forte: 350 mL de cerveja Skol + 8 pedaços de papelão (4 x 4 cm) por 30 minutos.
Aroma herbal	Aroma característico de infusão (chá) de plantas	Nenhum: Água. Forte: Infusão de 10 g de chá verde em 200 mL de água.
Gosto doce	Gosto primário característico de solução de sacarose	Nenhum: Água. Forte: 6 g de sacarose em 350 mL de cerveja Skol.
Gosto Ácido	Gosto primário característico de soluções ácidas.	Nenhum: Água. Forte: 6 g de ácido cítrico em 350 mL de cerveja Skol.
Gosto Amargo	Gosto primário característico de cervejas.	Nenhuma: Água. Forte: Cerveja Maniacs IPA.
Sabor cítrico	Sabor característico de frutas cítricas.	Nenhuma: Água. Forte: 5 ml de suco concentrado de maracujá maguary em 70 mL de cerveja Skol.
Sabor Oxidado	Sabor característico de cerveja envelhecida	Nenhum: Água. Forte: Cerveja antártica original armazenada em estufa a 40 °C por 24 horas.
Sabor Herbal	Sabor característico de infusão (chá) de ervas.	Nenhum: Água. Forte: Infusão de 10 g de carqueja em 200 mL de água.
Corpo	Sensação de preenchimento na boca.	Baixo: Água. Alto: Cerveja La U APA.

Figura 18 - Ficha utilizada nos testes de Perfil Descritivo Otimizado

Nome: _____ Data: _____

Por favor, prove a amostra e marque com um traço vertical nas escalas abaixo, a posição que identifique melhor a intensidade das características avaliadas.

Atributo: _____

Amostra: _____ |-----|

Amostra: _____ |-----|

Amostra: _____ |-----|

Amostra: _____ |-----|

Amostra: _____ |-----|

Amostra: _____ |-----|

Amostra: _____ |-----|

Fonte: Adaptado de Da Silva, Minim e Della Lucia (2016).

4.6. Análise Estatística

As análises foram realizadas em delineamento inteiramente casualizado, sendo o experimento realizado com três repetições e as análises de cada experimento efetuadas em triplicata. Os dados das amostras com concentrações diferentes da mesma planta foram submetidos à análise de variância univariada (ANOVA) e à análise de regressão.

A comparação entre as cervejas com plantas amargas, a cerveja padrão (feita com lúpulo) e a comercial foi realizada por ANOVA. O teste de Tukey foi utilizado quando a ANOVA apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Todas as análises foram realizadas ao nível de 5% de probabilidade.

Para análise sensorial, foi realizado ainda o mapa de preferência interno, construído usando análise de cluster, seguido de escalonamento multidimensional e o mapa de preferência externo por meio da análise dos componentes principais. Todas as análises foram realizadas utilizando o software Statistica 10.0 (StatSoft inc., USA)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização das plantas amargas

Com o objetivo de verificar o potencial das plantas escolhidas, foram avaliados o teor de compostos fenólicos totais, a atividade antioxidante e a atividade antimicrobiana das mesmas.

A Tabela 4 mostra que o teor de compostos fenólicos totais nas respectivas plantas teve variação significativa. Os compostos fenólicos estão dentre os compostos mais associados a características amargas dos respectivos chás, contendo taninos, terpenos dentre outros compostos que apresentam sabor amargo. No entanto, uma caracterização mais detalhada destes compostos se faz necessária para possibilitar melhor correlação entre o teor de compostos fenólicos e o amargor característico.

A atividade antioxidante das amostras teve resposta diferente ao se comparar os resultados obtidos pelo método de DPPH e ABTS. Enquanto no primeiro a amostra de infusão de pau tenente mostra o maior poder antioxidante, no segundo ela obteve pior poder antioxidante em relação as demais.

Tabela 4– Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos diferentes extratos aquosos.

Amostra	Fenólicos totais (mg Ác. galico.L⁻¹)	DPPH (%)	ABTS (%)
Quina	450,13 (21,59) ^b	57,60 (0,155) ^a	99,38 (0,011) ^a
Alcachofra	538,15 (15,50) ^c	66,21 (0,188) ^b	99,69 (0,006) ^a
Guatambu	184,78 (11,67) ^a	67,49 (0,372) ^c	50,51 (1,010) ^b
Pau Tenente	464,74 (34,45) ^b	70,90 (0,865) ^e	37,29 (0,909) ^c
Carqueja	630,28 (25,51) ^d	69,53 (0,342) ^d	99,64 (0,082) ^a

*Média (desvio padrão). ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

As amostras de infusão de carqueja e alcachofra foram as que se destacaram em relação ao potencial antioxidante, obtendo elevado poder antioxidante nos dois métodos avaliados.

De uma forma geral, uma maior atividade antioxidante está diretamente correlacionada com maior teor de compostos fenólicos totais. Isto pode ser observado também neste estudo: a amostra de carqueja foi a que apresentou maior teor de compostos fenólicos totais e maior atividade antioxidante, enquanto a amostra de guatambu foi a que apresentou menor teor de compostos fenólicos e menor atividade antioxidante, evidenciado no método ABTS.

Foi avaliado também o potencial antimicrobiano dos extratos aquosos das plantas (Tabela 5). Pode-se perceber que as plantas apresentaram concentração mínima inibitória para *S. typhimurium*, *L. rhamnosus*, e *S. cerevisiae* por volta de 18 gL⁻¹ de uso destes extratos aquosos. E, em relação a *E. coli*, nenhuma das plantas conseguiu causar inibição de seu crescimento nas condições analisadas.

A concentração máxima de cada planta utilizada na cerveja foi de 5 gL⁻¹, abaixo da concentração inibitória mínima. Logo, pode-se afirmar que nenhuma das plantas utilizadas apresenta potencial antimicrobiano dentro das condições avaliadas.

No entanto, no atual processo industrial de produção de cerveja, o uso das propriedades bacteriostáticas do lúpulo não é explorado, visto que as cervejas após serem produzidas são pasteurizadas, evitando um possível risco de alterações microbiológicas nas mesmas.

Desta forma, apesar de não apresentarem poder antimicrobiano nas concentrações utilizadas no processo cervejeiro, todas as plantas apresentam grande potencial de aplicação, devido ao seu sabor amargo, à concentração de compostos fenólicos e ao alto poder antioxidante, além de um possível uso para benefícios a saúde, visto que todas estão diretamente vinculadas a medicina popular.

Tabela 5 – Concentração mínima inibitória das infusões das plantas amargas frente a diferentes micro-organismos

Micro-organismos	Quina	Alcachofra	Guatambu	Pau Tenente	Carqueja
<i>E. coli</i>	----	----	----	----	----
<i>S. typhimurium</i>	18,6 g.L ⁻¹	18,6 g.L ⁻¹	18,4 g.L ⁻¹	18 g.L ⁻¹	18,6 g.L ⁻¹
<i>L. rhamnosus</i>	18 g.L ⁻¹	18 g.L ⁻¹	18,2 g.L ⁻¹	17,8 g.L ⁻¹	17,8 g.L ⁻¹
<i>S cereviseae</i>	18 g.L ⁻¹	18 g.L ⁻¹	----	----	17,8 g.L ⁻¹

5.1.1. Análises físico-químicas

Observa-se que as cervejas produzidas com diferentes concentrações das plantas amargas apresentam teor de extrato original próximos, não apresentando diferenças significativas entre si (Tabelas 6 a 10). Ou seja, a pequena diferença numérica em relação ao teor de extrato original das amostras ocorreu devido às alterações casuais do processo, como granulometria de moagem, ou, até mesmo, rendimento de mosturação.

Todas as cervejas apresentam extrato original em torno de 12 °P, estando de acordo com o que define o *Beer Judge Certification Program* (BJCP) para cervejas *American Lager*, conhecida popularmente no Brasil como Pilsen (STRONG; ENGLAND, 2015).

O extrato aparente das cervejas também não apresentou diferença significativa entre as amostras avaliadas, exceto nas cervejas contendo carqueja na formulação, as quais, apresentaram pequena alteração. Foi verificado menor valor de 3,1 °P para a cerveja contendo 3 gL⁻¹ de carqueja e maior de 4 °P para a que continha 2 gL⁻¹. Esta diferença está relacionada a alterações inerentes ao processo fermentativo, como observado por Piddocke et al. (2009), ao avaliar o processo fermentativo de mostos cervejeiros com diferentes concentrações de açúcar.

A atenuação aparente não diferiu estatisticamente dentre as condições avaliadas, o que corrobora com o fato das alterações no extrato aparente estarem relacionados à natureza do processo fermentativo.

Tabela 6 - Caracterização físico-química de cervejas com diferentes concentrações de carqueja

Amostras	EO	EA	AA	TA	Cor	T	pH	A
Padrão	12,6 (0,20) ^a	4,00 (0,26) ^{ab}	68,3 (2,38) ^a	4,6 (0,22) ^a	13,6 (0,465) ^a	14,99 (0,088) ^a	4,33 (0,06) ^a	10,0 (0,132)
Carqueja 1 gL⁻¹	12,4 (0,49) ^a	3,70 (0,44) ^{abc}	70,2 (4,04) ^a	4,7 (0,41) ^a	16,3 (0,485) ^b	18,79 (0,088) ^b	4,03 (0,06) ^b	-----
Carqueja 2 gL⁻¹	12,5 (0,15) ^a	4,30 (0,35) ^a	65,6 (2,47) ^a	4,5 (0,13) ^a	15,5 (0,279) ^{bc}	20,05 (0,672) ^c	4,07 (0,10) ^b	-----
Carqueja 3 gL⁻¹	11,6 (0,40) ^c	3,10 (0,30) ^c	73,3 (3,36) ^a	4,6 (0,37) ^a	15,4 (0,214) ^{bc}	20,24 (0,301) ^c	4,40 (0,06) ^a	-----
Carqueja 4 gL⁻¹	11,9 (0,20) ^a	3,50 (0,30) ^{abc}	70,6 (2,65) ^a	4,5 (0,22) ^a	16,3 (0,531) ^b	20,45 (0,000) ^c	4,13 (0,06) ^b	-----
Carqueja 5 gL⁻¹	12,1 (0,35) ^a	3,30 (0,17) ^{bc}	72,7 (1,56) ^a	4,7 (0,21) ^a	14,7 (0,268) ^c	20,32 (0,265) ^c	4,03 (0,11) ^b	-----
Comercial	-----	-----	-----	4,5 (0,13) ^a	6,40 (0,088) ^d	1,160 (0,175) ^d	3,82 (0,01) ^c	7,03 (0,737)

Tabela 7 - Caracterização físico-química de cervejas com diferentes concentrações de alcachofra

Amostras	EO	EA	AA	TA	Cor	T	pH	A
Padrão	12,7 (0,153) ^a	3,3 (0,36) ^a	74,0 (2,55) ^a	4,9 (0,07) ^a	13,4 (0,434) ^a	13,44 (0,088) ^a	4,27 (0,11) ^a	8,47 (0,05)
Alcachofra 1gL⁻¹	12,3 (0,321) ^a	3,5 (0,44) ^a	71,5 (2,88) ^a	4,7 (0,07) ^a	23,7 (0,940) ^b	25,13 (0,177) ^b	3,44 (0,02) ^{bc}	-----
Alcachofra 2gL⁻¹	12,3 (0,252) ^a	3,6 (0,35) ^a	70,7 (3,30) ^a	4,7 (0,31) ^a	36,1 (0,344) ^c	36,54 (0,053) ^c	3,25 (0,01) ^b	-----
Alcachofra 3gL⁻¹	12,5 (0,231) ^a	3,9 (0,17) ^a	68,8 (1,75) ^a	4,6 (0,19) ^a	30,7 (0,189) ^c	31,85 (0,141) ^c	3,68 (0,01) ^c	-----
Alcachofra 4gL⁻¹	12,4 (0,058) ^a	4,0 (0,30) ^a	67,7 (2,28) ^a	4,6 (0,13) ^a	34,3 (0,578) ^c	33,63 (0,530) ^c	3,52 (0,01) ^{bc}	-----
Alcachofra 5gL⁻¹	12,2 (0,208) ^a	3,7 (0,10) ^a	69,7 (0,35) ^a	4,6 (0,07) ^a	27,5 (0,076) ^b	28,81 (0,088) ^b	3,64 (0,32) ^c	-----
Comercial	-----	-----	-----	4,5 (0,13) ^a	6,40 (0,088) ^d	1,160 (0,175) ^d	3,80 (0,01) ^c	7,03 (0,73)

* Em que: EO = extrato original (°P), EA = extrato aparente (°P), AA = atenuação aparente (%), TA = teor alcoólico (°GL), Cor = cor (EBC), T = turbidez (EBC) e A = amargor (IBU); ** Média (desvio padrão); ***As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 8 - Caracterização físico-química de cervejas com diferentes concentrações de quina

Amostras	EO	EA	AA	TA	Cor	T	pH	A
Padrão	12,0 (0,208) ^a	3,10 (0,12) ^a	74,17 (1,45) ^a	4,8 (0,05) ^a	8,5 (0,052) ^a	5,540 (0,225) ^a	4,18 (0,04) ^a	8,53 (0,325)
Quina 0,1 gL⁻¹	12,2 (0,208) ^a	3,10 (0,10) ^a	74,65 (1,00) ^a	5,0 (0,14) ^a	8,4 (0,043) ^a	5,260 (0,014) ^a	4,00 (0,01) ^b	-----
Quina 0,2 gL⁻¹	11,9 (0,200) ^a	3,27 (0,10) ^a	72,45 (2,86) ^a	4,7 (0,25) ^a	8,5 (0,088) ^a	8,860 (0,652) ^d	3,60 (0,01) ^c	-----
Quina 0,3 gL⁻¹	11,8 (0,153) ^a	3,17 (0,31) ^a	73,13 (3,42) ^a	4,7 (0,30) ^a	9,4 (0,204) ^c	13,14 (0,356) ^c	3,48 (0,01) ^d	-----
Quina 0,4 gL⁻¹	12,1 (0,208) ^a	3,33 (0,35) ^a	72,36 (2,44) ^a	4,7 (0,22) ^a	9,7 (0,080) ^{bc}	15,21 (0,088) ^b	3,45 (0,01) ^d	-----
Quina 0,5 gL⁻¹	12,0 (0,100) ^a	3,17 (0,25) ^a	73,54 (0,52) ^a	4,8 (0,06) ^a	9,8 (0,167) ^b	15,39 (0,177) ^b	3,45 (0,01) ^d	-----
Comercial	-----	-----	-----	4,6 (0,05) ^a	6,4 (0,128) ^d	1,360 (0,055) ^e	3,91 (0,01) ^e	7,10 (0,436)

Tabela 9 - Caracterização físico-química de cervejas com diferentes concentrações de guatambu

Amostras	EO	EA	AA	TA	Cor	T	pH	A
Padrão	11,8 (0,100) ^a	3,03 (0,38) ^a	74,31 (3,05) ^a	4,7 (0,16) ^a	14,5 (0,038) ^c	6,160 (0,465) ^a	4,09 (0,01) ^a	7,75 (0,342)
Guatambu 0,1 gL⁻¹	11,9 (0,100) ^a	2,83 (0,32) ^a	76,18 (2,89) ^a	4,9 (0,22) ^a	15,7 (0,422) ^a	27,17 (0,289) ^b	3,41 (0,01) ^b	-----
Guatambu 0,2 gL⁻¹	11,9 (0,100) ^a	2,67 (0,38) ^a	77,61 (2,99) ^a	5,0 (0,15) ^a	15,2 (0,075) ^{ab}	21,68 (0,238) ^c	3,38 (0,02) ^{bc}	-----
Guatambu 0,3 gL⁻¹	11,9 (0,100) ^a	2,67 (0,06) ^a	77,59 (0,52) ^a	5,0 (0,06) ^a	14,9 (0,087) ^{bc}	25,58 (0,144) ^d	3,37 (0,01) ^{bc}	-----
Guatambu 0,4 gL⁻¹	11,8 (0,231) ^a	2,97 (0,51) ^a	74,94 (4,30) ^a	4,8 (0,27) ^a	15,0 (0,072) ^b	18,92 (0,330) ^e	3,36 (0,03) ^c	-----
Guatambu 0,5 gL⁻¹	12,0 (0,173) ^a	2,97 (0,51) ^a	75,24 (4,55) ^a	4,9 (0,35) ^a	15,1 (0,075) ^b	23,91 (0,416) ^f	3,34 (0,01) ^c	-----
Comercial	-----	-----	-----	4,6 (0,05) ^a	6,40 (0,128) ^d	1,360 (0,055) ^g	3,91 (0,01) ^d	7,10 (0,436)

* Em que: EO = extrato original (°P), EA = extrato aparente (°P), AA = atenuação aparente (%), TA = teor alcoólico (°GL), Cor = cor (EBC), T = turbidez (EBC) e A = amargor (IBU); ** Média (desvio padrão); ***As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 10 - Caracterização físico-química de cervejas com diferentes concentrações de pau tenente

Amostras	EO	EA	AA	TA	Cor	T	pH	A
Padrão	12,4 (0,15) ^a	3,30 (0,09) ^a	73,3 (1,02) ^a	4,9 (0,140) ^a	9,50 (0,01) ^{ab}	6,20 (0,383) ^a	4,07 (0,061) ^a	8,63 (0,35)
Pau tenente 0,1 gL⁻¹	12,5 (0,10) ^a	3,40 (0,18) ^a	72,8 (1,61) ^a	4,9 (0,157) ^a	10,3 (1,04) ^{ab}	10,2 (0,189) ^b	3,07 (0,015) ^b	-----
Pau tenente 0,2 gL⁻¹	12,4 (0,21) ^a	3,32 (0,14) ^a	73,1 (1,37) ^a	4,9 (0,155) ^a	11,0 (0,04) ^a	10,1 (0,063) ^b	3,08 (0,015) ^{bc}	-----
Pau tenente 0,3 gL⁻¹	12,3 (0,15) ^a	3,30 (0,18) ^a	73,2 (1,63) ^a	4,9 (0,182) ^a	9,10 (0,03) ^b	8,00 (0,014) ^c	3,18 (0,015) ^d	-----
Pau tenente 0,4 gL⁻¹	12,3 (0,26) ^a	3,40 (0,18) ^a	72,6 (1,60) ^a	4,9 (0,231) ^a	10,2 (0,95) ^{ab}	13,1 (0,072) ^d	3,14 (0,010) ^{cd}	-----
Pau tenente 0,5 gL⁻¹	12,4 (0,15) ^a	3,51 (0,32) ^a	71,8 (2,75) ^a	4,9 (0,131) ^a	10,9 (0,09) ^a	16,1 (0,063) ^e	3,36 (0,015) ^e	-----
Comercial	-----	-----	-----	4,6 (0,055) ^a	6,40 (0,12) ^c	1,36 (0,055) ^f	3,91 (0,010) ^f	7,10 (0,436)

* Em que: EO = extrato original (°P), EA = extrato aparente (°P), AA = atenuação aparente (%), TA = teor alcoólico (°GL), Cor = cor (EBC), T = turbidez (EBC) e A = amargor (IBU); ** Média (desvio padrão); ***As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Todas as formulações avaliadas obtiveram atenuação aparente em torno de 70 %. Esta é, geralmente, a atenuação obtida no processo cervejeiro (MAYER et al., 2016; ROGERS et al., 2016). Desta forma, pode-se observar que o uso das plantas amargas como substitutas de lúpulo não causa nenhum prejuízo ao processo fermentativo.

Da mesma forma, o teor alcoólico – outra variável correlacionada ao processo fermentativo – também não diferiu estatisticamente nas amostras analisadas. Strong e England (2015) preconizam que cervejas do estilo American lager devem possuir teor alcoólico ente 4,2 e 5,3 °GL. Logo, todas as amostras se enquadram dentro do estilo proposto neste estudo.

A cor e a turbidez das amostras contendo as plantas amargas apresentaram valores significativamente diferentes da amostra comercial, bem como da amostra padrão. A amostra comercial apresentou cor mais clara e menor turbidez, explicado pelos eficientes métodos de filtração nos quais a cerveja é submetida (CIMINI; MORESI, 2018; GASSARA et al., 2015).

As demais cervejas utilizadas no experimento apresentaram maior turbidez, devido ao fato das mesmas não sofrerem filtração. Os polifenóis, proteínas, levedura, entre outros compostos ainda presentes em uma cerveja não filtrada/estabilizada, acabam gerando turbidez (STEINER; BECKER; GASTL, 2010).

Além disso, ressalta-se que, ao longo do processo de fervura, os polifenóis do lúpulo se complexam com proteínas do mosto e outros compostos decantando e formando o trub (JAKUBOWSKI et al., 2016), que é retirado do processo. Isso pode explicar a maior turbidez encontrada nas amostras com utilização das plantas amargas.

Em relação ao pH, as amostras padrão, comercial e as que continham carqueja, apesar de diferirem estatisticamente entre as mesmas, obtiveram valores próximos ao pH 4, que é usualmente observado para cervejas deste estilo (BRUNELI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014; VILLALPANDA et al., 2013).

Já as cervejas contendo alcachofra, pau tenente, quina e guatambu apresentaram pH abaixo ou bem próximos de 3,5, geralmente encontrado em cervejas ácidas (OSBURN et al., 2018; ROGERS et al., 2016). A única exceção se deu na cerveja contendo 0,1 gL⁻¹ de quina, que apresentou pH 4.

A ocorrência deste fato está provavelmente correlacionado à ausência de lúpulo, que, como sabido, possui efeito bacteriostático sobre algumas bactérias (BLANCO;

ROJAS; NIMUBONA, 2007; HOUGH; HOWARD; SLATER, 1957; YAMAGUCHI; SATOH-YAMAGUCHI; ONO, 2009), enquanto estas plantas não possuem.

O baixo valor de pH está correlacionado também ao processo de gaseificação, utilizando *priming*. As leveduras selvagens e bactérias naturalmente presentes no mosto (lactobacilos, pediococcus, brettanomyces, etc...) acabam tendo seu metabolismo acelerado (temperaturas ± 20 °C), gerando acidificação da cerveja (DRAGONE et al., 2008).

Por fim, o amargor é determinado pela quantidade de alfa-ácidos do lúpulo presentes na bebida. Devido a isto, pode ser obtido apenas o amargor das cervejas padrão e comercial, que ficaram entre 7 a 10 IBU, que é o amargor encontrado nas cervejas do estilo *American Lager*.

Logo, fica evidenciado que o uso de plantas amargas como substituinte de lúpulo não causa nenhum prejuízo às características físico-químicas da cerveja, como corroborado por Okafor et al. (2016) e Adenuga, Olaleye e Adepoju (2010), que também não relataram alterações nas características físico-químicas de cervejas elaboradas com diferentes extratos de plantas africanas.

5.2. Análise sensorial

As análises sensoriais das cervejas foram realizadas em cinco sessões distintas. Em cada sessão, foram comparadas as cinco concentrações de cada planta, em relação a uma formulação padrão contendo lúpulo e uma amostra comercial.

A avaliação foi realizada, a cada sessão, por 100 pessoas, entre funcionários, professores e alunos do Ibilce - Unesp. No momento da realização das análises, os avaliadores receberam o termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE – (Apêndice B) e um questionário com intuito de avaliar a frequência de consumo de cerveja (Apêndice C). Consumidores que alegaram não gostar de cerveja foram excluídos da seção.

A idade dos avaliadores variou entre 18 e 67 anos, sendo que 42 % eram mulheres, e os demais homens. Todos avaliadores têm o hábito de consumo no mínimo ocasional da bebida. Destes, em todas as sessões, mais de 60 % relatam consumo frequente da mesma.

Apesar disto, 52 % dos selecionados afirmaram não ter hábito de consumir cerveja artesanal. Vale ressaltar que 71 % dos avaliadores preferiram cervejas pouco amargas em detrimento daquelas com maior amargor.

5.2.1. Carqueja

As amostras de cerveja contendo carqueja, bem como a comercial e a padrão obtiveram uma aceitação global relativamente alta quando comparadas a Ribeiro et al. (2008) que obtiveram escores inferiores a 7 ao avaliar amostras de cervejas *american lagers* comerciais por meio de teste cego, e Araújo, Silva e Minim (2003) que obtiveram escores também próximas a 7 para cervejas pilsen provenientes de diferentes segment/os de mercado (Tabela 11).

Observa-se uma tendência de que, com o acréscimo de carqueja, ocorra uma redução na aceitação da amostra, entretanto, não foi possível obter correlação entre as variáveis. As cervejas padrão, comercial e aquelas com carqueja de 1 a 4 gL⁻¹ obtiveram aceitação global entre as notas hedônicas 6 e 7, que significam respectivamente “gostei levemente” e “gostei moderadamente”. A amostra contendo 5 gL⁻¹ obteve escore sensorial 4, que significa “desgostei ligeiramente”.

O uso de carqueja não influenciou a aceitação da cor da cerveja por parte dos consumidores. A aceitação do aroma das cervejas também se encontra próximo ao observado nas amostras padrão e comercial, tendo a amostra contendo 5 gL⁻¹ uma diminuição na aceitação em relação às demais para o aroma.

A aceitação do sabor das amostras padrão, comercial, carqueja 1 e 2 gL⁻¹ não apresentou diferença significativa. As amostras contendo 3, 4 e 5 gL⁻¹ de carqueja foram as menos apreciadas.

A análise de agrupamentos (*clusters*) para a aceitação global das amostras (Figura 19) nos mostra as semelhanças das amostras por meio da distância euclidiana entre as mesmas, permitindo observar a formação de apenas 1 cluster (amostras carqueja 1 gL⁻¹ e padrão), não havendo agrupamento em nenhuma das outras amostras.

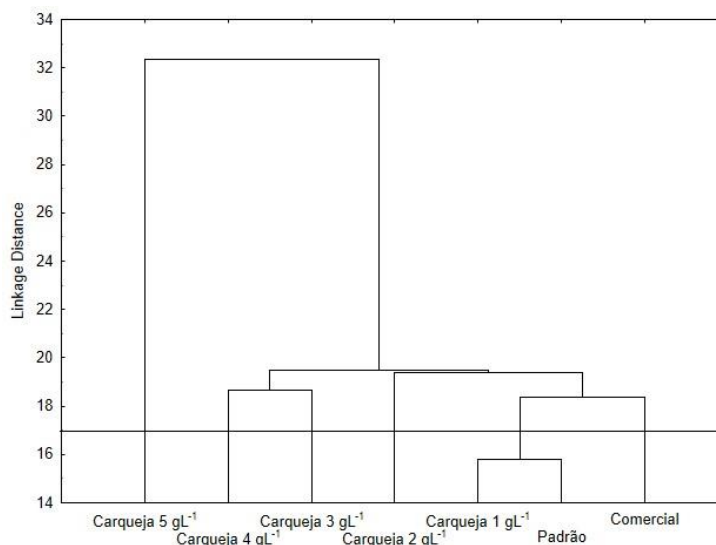
Tabela 11 - Aceitação sensorial das cervejas com diferentes concentrações de carqueja.

Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Aceitação Global
Padrão	7,02 (1,4) ^a	6,79 (1,3) ^a	6,91 (1,6) ^a	6,88 (1,5) ^a
Carqueja 1gL⁻¹	7,28 (1,4) ^a	6,70 (1,5) ^{ab}	6,55 (1,6) ^{ab}	6,84 (1,3) ^a
Carqueja 2gL⁻¹	6,98 (1,5) ^a	6,59 (1,5) ^{ab}	6,43 (1,8) ^{ab}	6,39 (1,7) ^{ab}
Carqueja 3gL⁻¹	6,79 (1,4) ^a	6,05 (1,8) ^{bc}	5,85 (2,1) ^b	6,14 (1,9) ^b
Carqueja 4gL⁻¹	6,90 (1,4) ^a	6,38 (1,6) ^{ab}	6,02 (2,2) ^b	6,06 (1,8) ^b
Carqueja 5gL⁻¹	6,80 (1,6) ^a	5,41 (2,2) ^c	3,44 (2,3) ^c	4,0 (2,2) ^c
Comercial	6,98 (1,4) ^a	6,34 (1,7) ^{ab}	6,15 (1,9) ^{ab}	6,46 (1,7) ^a

* Média (desvio padrão); **As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Isto sugere que a cerveja contendo 1 gL^{-1} de carqueja obteve aceitação global similar à cerveja padrão com lúpulo e a cerveja comercial. Para as demais cervejas, a aceitação não ocorreu de modo semelhante.

Figura 19 – Dendograma resultante da análise de *cluster* para aceitação global das amostras de cerveja utilizando diferentes concentrações de carqueja



Fonte: Elaborada pelo autor.

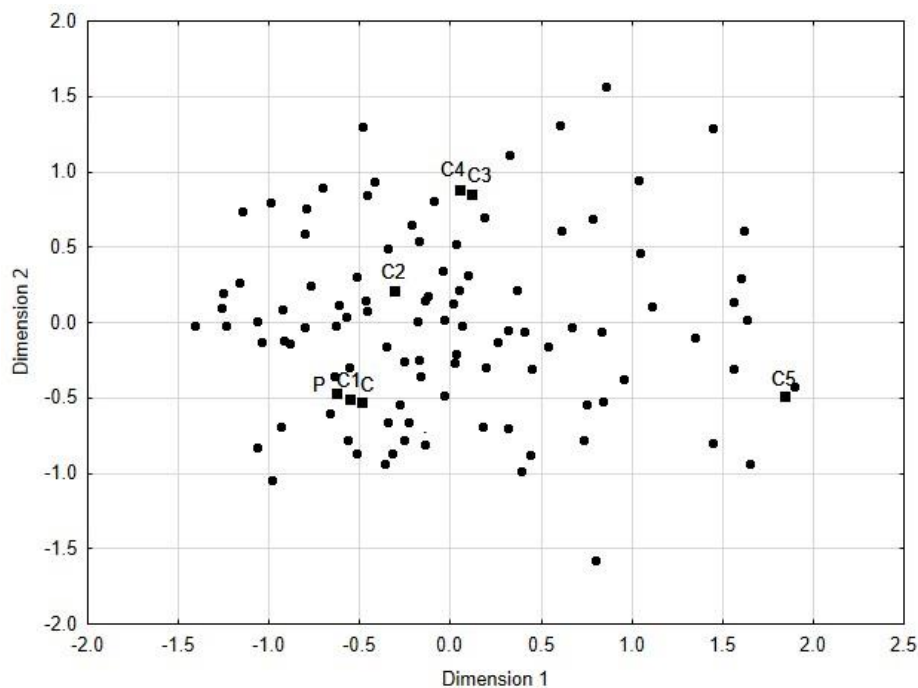
O mapa de preferência interno demonstra, de forma mais clara, o possível agrupamento destas amostras (Figura 20). Observa-se uma proximidade entre as formulações carqueja 1 gL^{-1} e padrão, bem como a amostra comercial.

A amostra contendo 2 gL^{-1} de carqueja também obteve boa aceitação sensorial, visto que existem muitos consumidores próximos de onde se encontra esta amostra. Vale ressaltar que, no mapa de preferência interno, os pontos dispersos representam cada consumidor. Um grande número de consumidores próximo às amostras indica boa aceitação das mesmas.

As amostras contendo carqueja nas concentrações de 3, 4 e 5 gL^{-1} tiveram menor aceitação que as demais, percebendo-se uma separação destas amostras em relação as outras, e aos consumidores.

Em relação ao aroma, percebe-se por meio da análise de cluster o mesmo padrão de agrupamento das amostras (Figura 21), sendo formado apenas 1 agrupamento, entre amostra contendo carqueja 1 gL^{-1} e a formulação padrão.

Figura 20 – Mapa de preferência interno para aceitação global das cervejas contendo diferentes concentrações de carqueja em substituição ao lúpulo.



Fonte: Elaborada pelo autor.

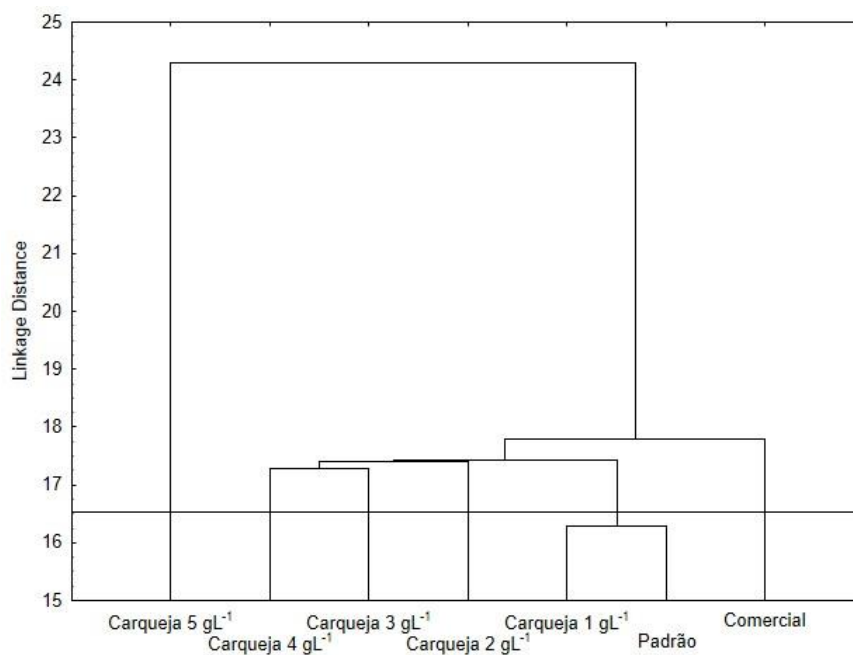
Em que: C é comercial, P é padrão, C1, C2, C3, C4 e C5 são carqueja 1, 2, 3, 4 e 5 gL⁻¹ respectivamente.

O mapa de preferência interno para aceitação do aroma (Figura 22) das cervejas também apresenta características parecidas ao de aceitação global, em que é possível perceber a presença de consumidores nos quatro quadrantes, com maior concentração no centro. As amostras padrão e carqueja 1 gL⁻¹ apresentam-se próximas.

A cerveja comercial possui baixa aceitação para o atributo aroma, bem como as contendo 3, 4 e 5 gL⁻¹ de carqueja. Novamente, a cerveja contendo 2 gL⁻¹ de carqueja apresentou boa aceitação por parte dos consumidores.

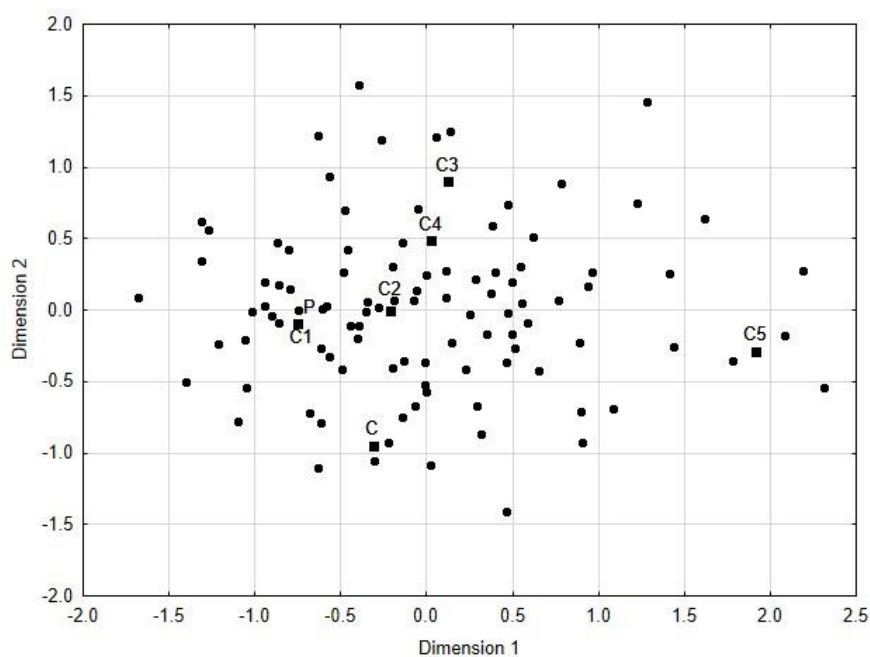
Estes resultados demonstram que o uso de carqueja, em determinadas concentrações, pode ser um potencial substituto do lúpulo, semelhante ao observado por Adenuga, Olaleye e Adepoju (2010) que relataram potencial para utilização de *Gongronema latifolium*, *Vernonia amygdalina* e *Garcinia kola* para substituição de lúpulo.

Figura 21 – Dendrograma resultante da análise de cluster para o aroma das amostras de cerveja utilizando diferentes concentrações de carqueja



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 22 – Mapa de preferência interno para o aroma das cervejas utilizando diferentes concentrações de carqueja



Fonte: Elaborada pelo autor.

Em que: C é comercial, P é padrão, C1, C2, C3, C4 e C5 são carqueja 1, 2, 3, 4 e 5 gL⁻¹ respectivamente.

A intensidade de amargor da formulação padrão, bem como da amostra comercial, apresentaram-se entre “suave” e “suave-moderado”, resultado estatisticamente igual ao obtido para as amostras contendo 1 e 2 gL⁻¹ de carqueja. As amostras contendo 3 e 4 gL⁻¹ apresentaram intensidade entre o “suave-moderado” e o “moderado” e a amostra com 5 gL⁻¹ com intensidade entre o “moderado” e o “moderado-forte” (Tabela 12).

Verifica-se que a cerveja contendo 5 gL⁻¹ de carqueja apresentou maior intensidade de amargor, podendo correlacionar este fator a baixa aceitação da mesma por parte dos consumidores.

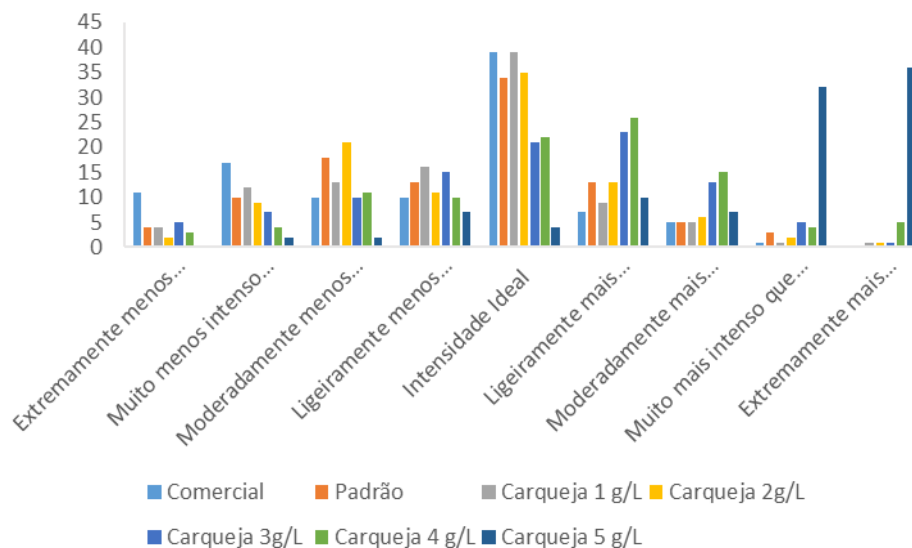
Tabela 12 - Intenção de compra, intensidade de amargor e ideal de intensidade de amargor para cervejas com diferentes concentrações de carqueja

Amostra	Intensidade de Amargor	Intensidade de Amargor Ideal	Intenção de compra
Padrão	1,32 (0,64) ^a	4,37 (1,8) ^{ab}	3,76 (1,0) ^a
Carqueja 1gL⁻¹	1,33 (0,63) ^a	4,32 (1,8) ^{ab}	3,58 (1,0) ^{ab}
Carqueja 2gL⁻¹	1,29 (0,63) ^a	4,47 (1,6) ^b	3,56 (1,0) ^{ab}
Carqueja 3gL⁻¹	1,63 (0,67) ^b	4,92 (1,6) ^{bc}	3,24 (1,3) ^b
Carqueja 4gL⁻¹	1,76 (0,73) ^b	5,32 (1,8) ^c	3,3 (1,3) ^b
Carqueja 5gL⁻¹	2,45 (0,84) ^c	7,47 (1,6) ^d	2,11 (1,2) ^c
Comercial	1,23 (0,60) ^a	3,95 (1,8) ^a	3,61 (1,1) ^{ab}

* Média (desvio padrão); **As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade

Além disso, ao avaliar qual seria a intensidade de amargor ideal, as amostras contendo 3 e 4 gL⁻¹ de carqueja foram as que obtiveram médias mais próximas à considerada intensidade ideal (Figura 23). Porém, a amostra contendo 3 gL⁻¹ não apresenta diferença significativa para as amostras contendo 1 e 2 gL⁻¹ de carqueja e formulação padrão.

Figura 23 – Distribuição de frequência para intensidade de amargor ideal das cervejas utilizando diferentes concentrações de carqueja

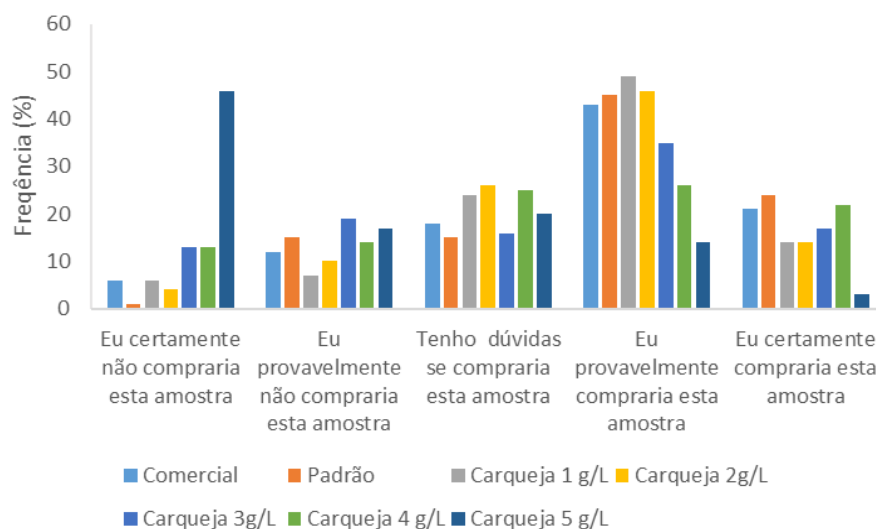


Fonte: Elaborada pelo autor.

Ressalta-se também que, em relação às demais, a amostra comercial foi considerada pelos consumidores como contendo intensidade de amargor abaixo da ideal, e a amostra com 5 gL^{-1} de carqueja com intensidade de amargor maior que ideal.

A intenção de compra das amostras foi semelhante, apesar de apresentarem, estatisticamente, diferença significativa. A distribuição de frequência para os diferentes atributos sensoriais testados remete que a maior frequência se deu no escore “provavelmente compraria esta amostra” (Figura 24). Vale destacar que a amostra contendo 5 gL^{-1} mais uma vez foi a exceção, apresentando distribuição de frequência diferente das demais, bem como a média de intenção de compra inferior.

Figura 24 – Distribuição de frequência para intenção de compra das cervejas utilizando diferentes concentrações de carqueja em substituição ao lúpulo.



Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2.2. Alcachofra

A avaliação sensorial das amostras contendo alcachofra em sua formulação mostra que a aceitação global para as amostras contendo 1 e 2 gL⁻¹ de alcachofra não diferiu das obtidas nas amostras padrão e comercial, com médias situadas entre os escores “gostei levemente” e “gostei moderadamente” (Tabela 13).

O aumento da concentração de alcachofra influenciou negativamente a aceitação global das cervejas, sendo a amostra com 5 gL⁻¹ de alcachofra a menos aceita, com média 4,4.

A aceitação do atributo aroma se comportou de forma semelhante à aceitação global, tendo as amostras com 1 e 2 gL⁻¹ de alcachofra tiveram aceitação próxima às amostras padrão e comercial, e a amostra contendo 5 gL⁻¹ obtendo pior avaliação.

A influência da aceitação do atributo sabor das amostras diferiu estatisticamente entre as cervejas avaliadas, seguindo a mesma tendência observada para o aroma e aceitação global. A única diferença foi que a amostra contendo 2 gL⁻¹ de alcachofra obteve aceitação inferior que a padrão, a comercial e a amostra com 1 gL⁻¹ de alcachofra.

A cor das amostras também apresentou diferença estatística. Porém, estas diferenças podem estar mais relacionadas a uma influência dos demais atributos do que a uma variação real do mesmo na avaliação.

A análise de agrupamento para os atributos aceitação global e aroma permitiu observar a formação de 2 grupos de amostras cuja aceitação ocorreu de forma semelhante (Figuras 25 e 26). Em ambos os atributos sensoriais mencionados, obteve-se a formação de um grupo contendo as amostras comercial, padrão e 1 g.L⁻¹ de alcachofra e outro grupo formado pelas amostras contendo 3, 4 e 5 g.L⁻¹ de alcachofra. A amostra com 2 g.L⁻¹ de alcachofra localizou-se na região central do gráfico, não contribuindo efetivamente para a análise de agrupamento.

Foi possível observar maior concentração de avaliadores na área esquerda do gráfico, mostrando que o grupo contendo as amostras padrão, comercial e de menor concentração de alcachofra (1 g.L⁻¹) foram as que apresentaram aceitação global e aceitação de aroma superior em relação às demais amostras avaliadas, reiterando os resultados da análise univariada.

Deste modo, a análise de cluster evidenciou que as amostras padrão, comercial e de menor concentração de alcachofra na composição apresentaram maior aceitação pelos consumidores, pressupondo que quanto maior a concentração de alcachofra na composição da cerveja, menor será a sua aceitação sensorial.

O mapa de preferência interno (Figuras 25 e 26) mostra os avaliadores bem dispersos nos quatro quadrantes no atributo aceitação global, com maior concentração a centro-esquerda. Para o atributo aroma, percebe-se uma menor dispersão dos dados.

Tabela 13 - Aceitação sensorial das cervejas com diferentes concentrações de alcachofra.

Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Aceitação Global
Padrão	7,26 (1,22) ^{ab}	6,98 (1,42) ^a	6,54 (1,87) ^a	6,58 (1,68) ^a
Alcachofra 1gL⁻¹	7,63 (1,39) ^a	6,47 (1,65) ^a	6,02 (1,97) ^{ab}	6,36 (1,89) ^a
Alcachofra 2gL⁻¹	6,99 (1,51) ^{abc}	6,34 (1,59) ^{abc}	5,53 (2,18) ^{bc}	6,39 (1,97) ^a
Alcachofra 3gL⁻¹	6,58 (1,61) ^{bc}	5,69 (1,92) ^{bc}	4,81 (1,91) ^d	5,88 (2,16) ^b
Alcachofra 4gL⁻¹	5,61 (1,97) ^d	5,75 (1,75) ^{bc}	4,52 (2,22) ^{cd}	5,14 (1,83) ^{bc}
Alcachofra 5gL⁻¹	5,61 (1,90) ^d	5,64 (1,79) ^c	4,02 (1,90) ^d	4,44 (2,01) ^c
Comercial	6,39 (1,80) ^c	6,39 (1,90) ^{ab}	6,42 (1,85) ^a	6,46 (1,66) ^a

* Média (desvio padrão); ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Neste, é possível observar que as amostras contendo alcachofra em concentração de 1 gL^{-1} e 2 gL^{-1} e a amostra padrão foram melhores aceitas, em que se percebe uma maior concentração de avaliadores próximo a estas amostras.

Outro fato interessante, a amostra comercial, apesar de formar um cluster com as amostras padrão e 1 gL^{-1} de alcachofra, em ambos os mapas de preferência, aparece alocado mais a esquerda, com poucos pontos ao seu redor, indicando uma menor aceitação da mesma.

Novamente, a amostra contendo 5 gL^{-1} foi a que apresentou pior resultado para aceitação global, com poucos avaliadores ao seu redor. No mais, as amostras 3 e 4 gL^{-1} de alcachofra também apresentam aceitação global inferior às concentrações mais baixas, porém com maior proximidade do que a amostra contendo 5 gL^{-1} .

A baixa dispersão dos provadores no mapa de preferência para o aroma dificulta a percepção de diferenças em relação a aceitação deste atributo por parte dos consumidores, mostrando que todas as amostras tiveram uma percepção muito parecida acerca da aceitação do aroma.

Em relação a intensidade de amargor e a intensidade ideal de amargor (Tabela 14), temos que os avaliadores julgaram a amostra comercial como a de menor intensidade e a mais afastada da intensidade ideal, fator este que pode ser correlacionado com os resultados obtido no mapa de preferência, justificando desta forma uma menor concentração de pontos em torno desta amostra.

Todas as amostras apresentam intensidade de amargor entre “suave” e “moderado”, bem como intensidade de amargor próxima ao ideal. Desta forma, pode-se afirmar que a baixa aceitação das amostras com maior concentração de alcachofra provavelmente está correlacionada a alterações no aroma e sabor, do que a um amargor excessivo.

Figura 25 – Dendograma e mapa de preferência interno para aceitação global das amostras com diferentes concentrações de alcachofra.

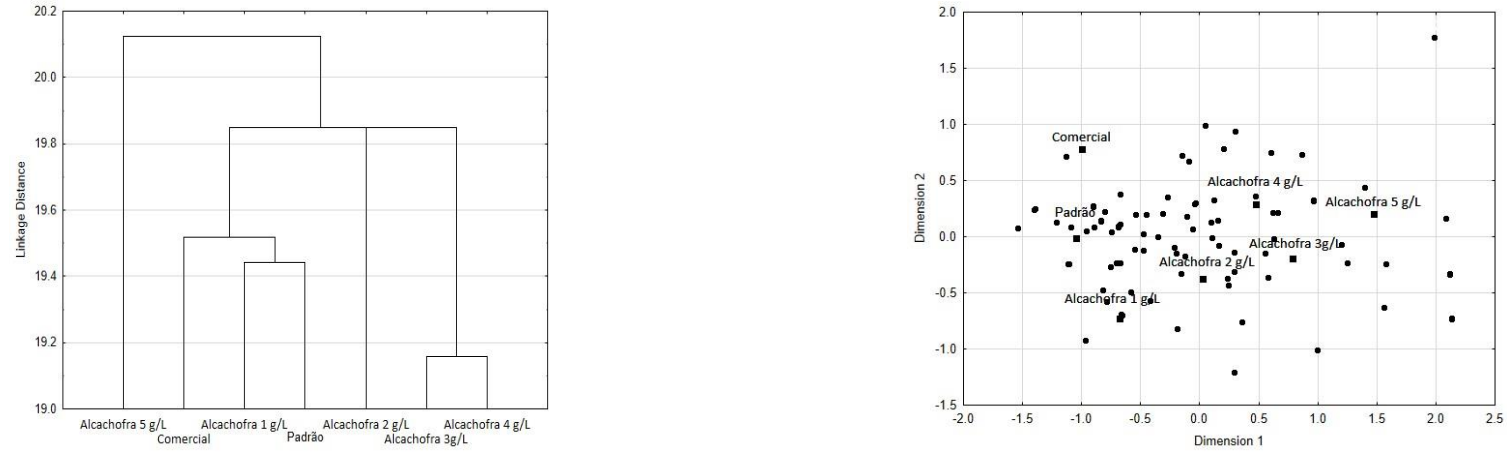
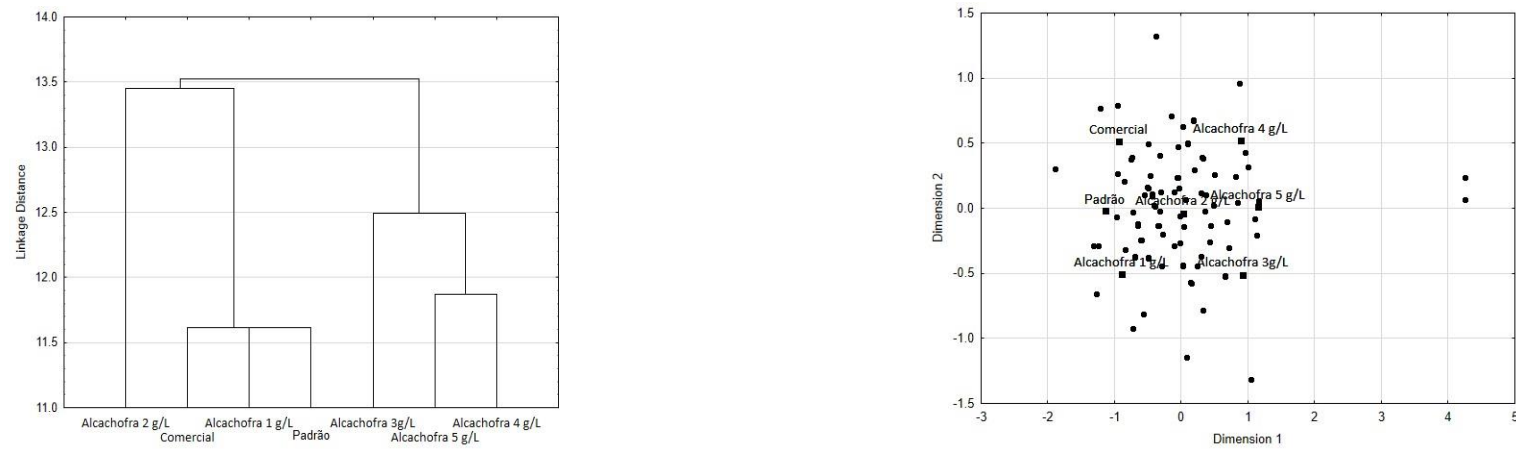


Figura 26 - Dendograma e mapa de preferência interno para o aroma das amostras com diferentes concentrações de alcachofra



Fonte: Elaboradas pelo autor.

A intenção de compra das amostras também corrobora com os demais resultados apresentados, sendo as cervejas mais bem avaliadas as que apresentaram maior intenção de compra.

Tabela 14 - Intenção de compra, intensidade de amargor e ideal de intensidade de amargor para cervejas contendo diferentes concentrações de alcachofra

Amostra	Intensidade de Amargor	Intensidade de Amargor Ideal	Intenção de compra
Padrão	1,70 (0,72) ^{ab}	5,17 (1,56) ^{ab}	3,60 (1,17) ^a
Alcachofra 1gL⁻¹	1,60 (0,61) ^{ab}	4,91 (1,56) ^{ab}	3,51 (1,34) ^{ab}
Alcachofra 2gL⁻¹	1,65 (0,75) ^{ab}	5,12 (1,74) ^{ab}	3,08 (1,38) ^{bc}
Alcachofra 3gL⁻¹	1,82 (0,84) ^a	5,52 (2,23) ^{ac}	2,58 (1,19) ^c
Alcachofra 4gL⁻¹	1,45 (0,86) ^b	4,61 (2,22) ^b	2,59 (1,06) ^c
Alcachofra 5gL⁻¹	1,66 (0,90) ^{ab}	4,96 (2,49) ^a	2,18 (1,14) ^d
Comercial	1,12 (0,57) ^c	3,98 (1,38) ^c	3,53 (1,14) ^{ab}

* Média (desvio padrão); ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade

5.2.3. Quina

Na avaliação sensorial das amostras com adição de quina, observa-se que as mesmas apresentam características semelhantes às observadas ao avaliar a aceitação das cervejas utilizando diferentes concentrações de alcachofra.

Logo, é possível observar que as amostras padrão, comercial e com concentração de quina 0,1 gL⁻¹ foram as que apresentaram melhores respostas para todos os atributos testados, ressaltando que a amostra contendo 0,2 gL⁻¹ não apresentou diferença significativa em relação àquela contendo 0,1 gL⁻¹ para todos atributos (Tabela 15).

A elevação na concentração de quina resulta em uma menor aceitação dos atributos aroma, sabor a aceitação global.

A aceitação do atributo cor obteve pequena variação significativa, evidenciada pela amostra 0,5 gL⁻¹ de quina em relação às amostras padrão e comercial. As diferentes concentrações de quina não interferiram na aceitação da cor da mesma.

Tabela 15 - Aceitação sensorial das cervejas com diferentes concentrações de quina.

Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Aceitação Global
Padrão	7,07 (1,37) ^a	6,97 (1,33) ^{ab}	7,23 (1,32) ^a	7,12 (1,15) ^a
Quina 0,1gL⁻¹	7,13 (1,64) ^a	6,60 (1,42) ^{ab}	6,48 (1,94) ^{ab}	6,79 (1,72) ^a
Quina 0,2gL⁻¹	6,73 (1,68) ^{ab}	6,21 (1,79) ^b	5,84 (2,12) ^{bc}	6,21 (1,72) ^b
Quina 0,3gL⁻¹	6,82 (1,59) ^{ab}	6,34 (1,66) ^{ab}	5,73 (1,90) ^{bc}	5,97 (1,74) ^b
Quina 0,4gL⁻¹	6,49 (1,60) ^{ab}	6,29 (1,62) ^b	5,62 (2,02) ^c	5,91 (1,67) ^b
Quina 0,5gL⁻¹	6,34 (1,68) ^b	5,46 (1,91) ^c	4,69 (2,25) ^d	4,98 (2,06) ^c
Comercial	7,02 (1,37) ^a	6,56 (1,52) ^a	6,69 (1,61) ^a	6,82 (1,34) ^a

* Média (desvio padrão); ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Novamente, este resultado leva a crer que a menor aceitação da cor esta correlacionada à menor aceitação dos demais atributos, não necessariamente a variação na cor da amostra.

A intensidade de amargor das amostras (Tabela 16) ficou entre os escores “suave” e “suave-moderado”. Observar-se que as amostras têm intensidade próximas de amargor, apesar de significativamente distintas.

Tabela 16 - Intenção de compra, intensidade de amargor e ideal de intensidade de amargor para cervejas contendo diferentes concentrações de quina

Amostra	Intensidade de Amargor	Intensidade de Amargor Ideal	Intenção de compra
Padrão	1,16 (0,62) ^{ab}	4,49 (1,34) ^a	3,96 (0,96) ^{ab}
Quina 0,1gL⁻¹	1,05 (0,62) ^a	4,46 (1,48) ^a	3,71 (1,08) ^a
Quina 0,2gL⁻¹	1,35 (0,77) ^{cb}	4,89 (1,80) ^{ab}	3,24 (1,21) ^{bc}
Quina 0,3gL⁻¹	1,15 (0,72) ^{ab}	4,53 (1,72) ^a	3,09 (1,13) ^c
Quina 0,4gL⁻¹	1,19 (0,77) ^{ab}	4,66 (1,84) ^{ab}	3,05 (1,09) ^c
Quina 0,5gL⁻¹	1,58 (0,93) ^c	5,25 (2,08) ^b	2,55 (1,21) ^d
Comercial	1,13 (0,64) ^{ab}	4,49 (1,34) ^a	3,62 (1,04) ^a

* Média (desvio padrão); ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade

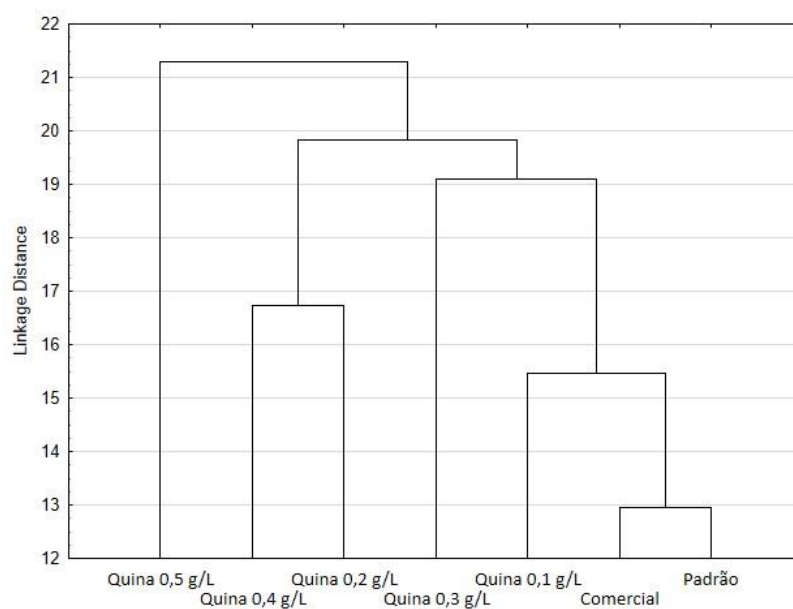
Logo, o aumento na concentração de quina, dentro do testado no experimento, não resulta em incremento muito grande no amargor da cerveja. Além disto, mesmo as cervejas com maior concentração de quina encontram-se próximas do que é considerado o amargor ideal para este estilo de cerveja.

A intenção de compra das amostras segue o mesmo padrão observado para aceitação dos atributos aroma, sabor e aceitação global, levando a observação de que o aroma e sabor das bebidas, diferenciados devido às concentrações de quina são os aspectos que mais influenciaram as escolhas dos avaliadores, sendo a intensidade amargor, menos influente.

A análise de clusters para aceitação global da quina mostra apenas um agrupamento, formado pelas amostras comercial e padrão (Figura 27). O mapa de preferência (Figura 28) gerado permite confirmar o observado na análise de variância.

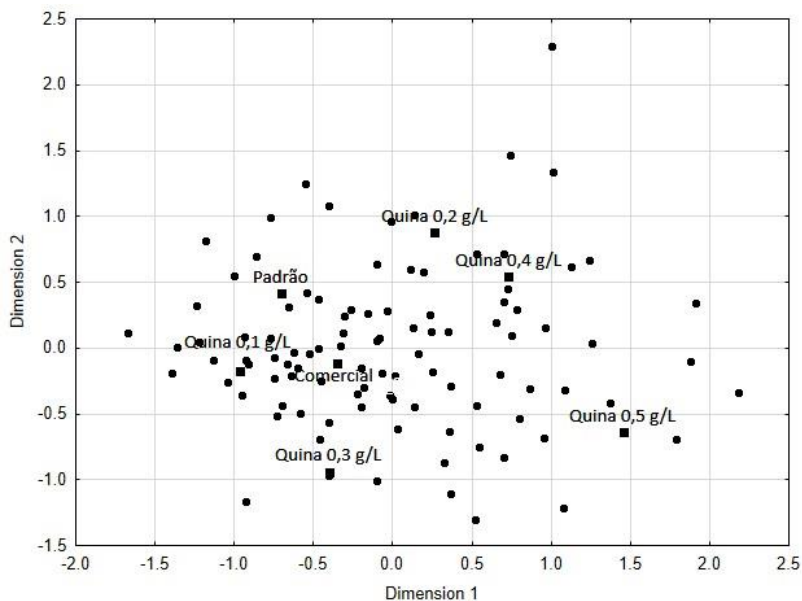
As amostras contendo quina 0,1 gL⁻¹, comercial e padrão são aquelas mais apreciadas. Enquanto verifica-se que as cervejas com demais concentrações de quina se apresentam em espaços mais periféricos, afastados da grande concentração de avaliadores, demonstrando novamente uma menor aceitação dos mesmos.

Figura 27 - Dendograma para aceitação global das amostras contendo diferentes concentrações de quina



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 28 - Mapa de preferência interno para amostras contendo diferentes concentrações de quina.



Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2.4. Pau Tenente e Guatambu

Ao avaliar a aceitação sensorial das amostras contendo guatambu e pau tenente como substituintes de lúpulo, percebe-se que ambas apresentaram características semelhantes.

As amostras padrão e comercial apresentaram aceitação global superior à encontrada nas cervejas contendo os substituintes (Tabelas 17 e 18). Ambas se encontravam entre os escores “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, enquanto as amostras contendo as duas plantas apresentaram escores sensoriais entre o “desgostei ligeiramente” e o “gostei ligeiramente”.

O mesmo efeito pode ser observada para o atributo sabor, demonstrando que este deve ter sido o mais influente sobre a aceitação global das bebidas. Em relação ao aroma, menores concentrações de ambas as plantas levaram a maior aceitação das amostras.

Os avaliadores não detectaram alteração na aceitação do atributo cor, conforme o incremento de maiores concentrações de ambas as plantas, demonstrando que a adição de diferentes concentrações das mesmas não afeta a cor do produto, como observado na avaliação físico-química das amostras (Tabelas 9 e 10).

Novamente, foi observado que quão maior a concentração das plantas, dentre as concentrações avaliadas neste estudo, menores são os escores sensoriais obtidos, ressaltando que se deve ter atenção à concentração de substituintes a serem utilizados.

Além disso, o fato de a maior parte dos avaliadores não estar habituado a consumir cervejas artesanais pode gerar uma menor aceitação do produto com a adição dos substituintes à cerveja, levando a obtenção de sabores e aromas não usuais nas cervejas lager padrão, encontradas no mercado.

A intensidade de amargor das amostras variou entre o “suave” e o “moderado”, sendo as cervejas padrão e comercial consideradas com intensidade menor de amargor em relação as utilizando pau tenente, e a cerveja comercial considerada de menor amargor em relação as que continham guatambu em sua formulação (Tabela 19 e 20).

Assim, as cervejas contendo maiores concentrações de cada uma das plantas foram descritas como as que obtiveram maior intensidade de amargor, embora essa variação não apresentou diferença significativa entre as diferentes concentrações de uma mesma planta.

Todas as amostras apresentaram intensidade de amargor próximas à ideal, podendo-se observar que as cervejas padrões e comercial foram consideradas ligeiramente abaixo do ideal, enquanto as contendo os substituintes ligeiramente acima do mesmo.

Tabela 17 - Aceitação sensorial das cervejas com diferentes concentrações de pau-Tenente

Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Aceitação Global
Padrão	6,88 (1,57) ^a	6,77 (1,54) ^{ab}	6,79 (1,82) ^a	6,80 (1,49) ^a
Pau Tenente 0,1gL⁻¹	5,83 (1,77) ^b	6,22 (1,62) ^{abc}	5,56 (1,68) ^b	5,56 (1,74) ^a
Pau Tenente 0,2gL⁻¹	5,82 (1,74) ^b	5,60 (1,72) ^{cd}	5,35 (2,19) ^{bc}	5,54 (1,97) ^{ab}
Pau Tenente 0,3gL⁻¹	5,81 (1,76) ^b	5,96 (1,77) ^{bcd}	5,12 (2,09) ^{bc}	5,40 (1,81) ^b
Pau Tenente 0,4gL⁻¹	6,09 (1,40) ^b	5,37 (1,95) ^{abd}	4,74 (2,00) ^{bc}	5,09 (1,81) ^b
Pau Tenente 0,5gL⁻¹	5,74 (1,92) ^b	5,41 (1,74) ^{cd}	4,62 (1,78) ^c	4,85 (2,09) ^c
Comercial	7,35 (1,49) ^a	6,66 (1,69) ^a	6,79 (1,59) ^a	7,17 (1,46) ^a

Tabela 18 - Aceitação sensorial das cervejas com diferentes concentrações de Guatambu.

Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Aceitação Global
Padrão	7,02 (1,29) ^{ab}	6,86 (1,36) ^{ab}	6,78 (1,74) ^a	7,05 (1,44) ^a
Guatambu 0,1gL⁻¹	7,10 (1,74) ^{ab}	6,59 (1,50) ^{ab}	6,10 (2,04) ^{ab}	5,90 (1,97) ^b
Guatambu 0,2gL⁻¹	6,89 (1,36) ^{ab}	6,13 (1,70) ^{bc}	5,43 (2,13) ^{bc}	5,65 (1,96) ^{bc}
Guatambu 0,3gL⁻¹	6,80 (1,52) ^{ab}	5,78 (1,79) ^c	5,28 (2,38) ^{bc}	5,24 (2,04) ^c
Guatambu 0,4gL⁻¹	6,67 (1,37) ^{ab}	5,71 (1,62) ^c	5,07 (1,96) ^c	5,11 (1,72) ^c
Guatambu 0,5gL⁻¹	6,46 (1,64) ^b	5,52 (1,83) ^c	4,21 (2,00) ^d	4,31 (1,89) ^d
Comercial	7,08 (1,41) ^a	6,65 (1,39) ^a	6,54 (1,78) ^a	6,93 (1,37) ^a

* Média (desvio padrão); ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

A intenção de compra das amostras padrão e comercial são mais elevadas em relação às demais cervejas, exceto para a cerveja contendo 0,1 gL⁻¹ de guatambu. No entanto, a intenção de compra não sofreu alteração significativa com o incremento de maiores concentrações dos substituintes (Tabelas 19 e 20).

Tabela 19 - Intenção de compra, intensidade de amargor e ideal de intensidade de amargor para cervejas contendo diferentes concentrações de pau tenente

Amostra	Intensidade de Amargor	Intensidade de Amargor Ideal	Intenção de compra
Padrão	1,14 (0,62) ^b	4,52 (1,33) ^b	3,68 (1,02) ^a
Pau Tenente 0,1gL⁻¹	1,44 (0,78) ^{abc}	5,05 (1,79) ^{ab}	2,96 (1,08) ^b
Pau Tenente 0,2gL⁻¹	1,45 (0,85) ^{abc}	5,17 (1,76) ^{ab}	2,95 (1,20) ^b
Pau Tenente 0,3gL⁻¹	1,49 (0,78) ^{ac}	5,16 (1,76) ^{ab}	2,82 (1,17) ^b
Pau Tenente 0,4gL⁻¹	1,64 (0,84) ^a	5,57 (2,01) ^a	2,56 (1,11) ^b
Pau Tenente 0,5gL⁻¹	1,65 (0,92) ^a	5,62 (2,22) ^a	2,62 (1,17) ^b
Comercial	1,10 (0,61) ^{bc}	4,50 (1,07) ^b	4,11 (0,93) ^a

Tabela 20 - Intenção de compra, intensidade de amargor e ideal de intensidade de amargor para cervejas contendo diferentes concentrações de guatambu

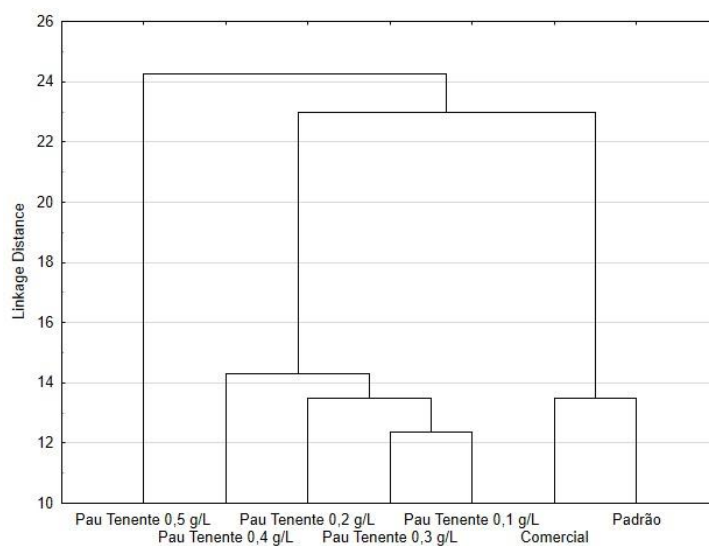
Amostra	Intensidade de Amargor	Intensidade de Amargor Ideal	Intenção de compra
Padrão	1,41 (0,73) ^{ab}	4,82 (1,43) ^a	3,73 (1,05) ^a
Guatambu 0,1gL⁻¹	1,46 (0,71) ^{ab}	5,12 (1,55) ^a	3,54 (1,27) ^a
Guatambu 0,2gL⁻¹	1,47 (0,88) ^{ab}	5,09 (1,90) ^a	2,96 (1,27) ^b
Guatambu 0,3gL⁻¹	1,48 (0,77) ^{ab}	5,03 (1,63) ^a	2,91 (1,32) ^b
Guatambu 0,4gL⁻¹	1,44 (0,84) ^{ab}	5,00 (1,97) ^a	2,87 (1,37) ^b
Guatambu 0,5gL⁻¹	1,72 (0,98) ^a	5,18 (2,40) ^a	2,76 (1,08) ^b
Comercial	1,17 (0,60) ^b	4,53 (1,42) ^a	3,70 (1,14) ^a

* Média (desvio padrão); ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade

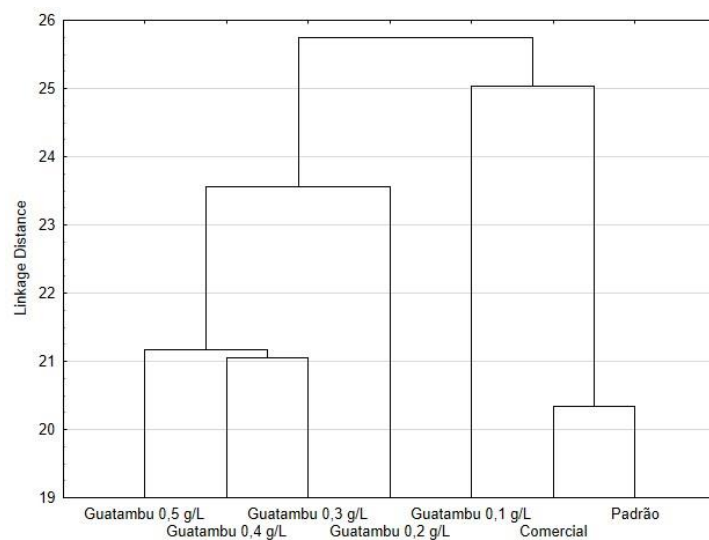
Com os resultados obtidos, foi possível obter dois agrupamentos em relação às cervejas de acordo com a análise de cluster (Figuras 29 e 30). Para ambas as substituições, forma-se um agrupamento entre as amostras padrão e comercial. E um

segundo agrupamento é formado pelas amostras contendo 0,1 a 0,4 gL⁻¹ para a planta pau tenente e 0,3 a 0,5 gL⁻¹ no caso do guatambu. Isto indica, que estas amostras foram avaliadas de forma semelhante pelos consumidores.

Figura 29 - Dendograma da aceitação global das amostras contendo diferentes concentrações de pau tenente (a) e guatambu (b)



(a)

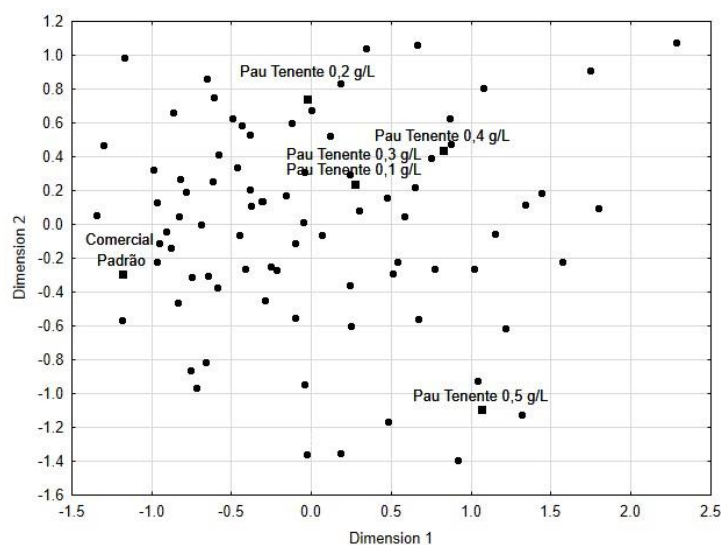


(b)

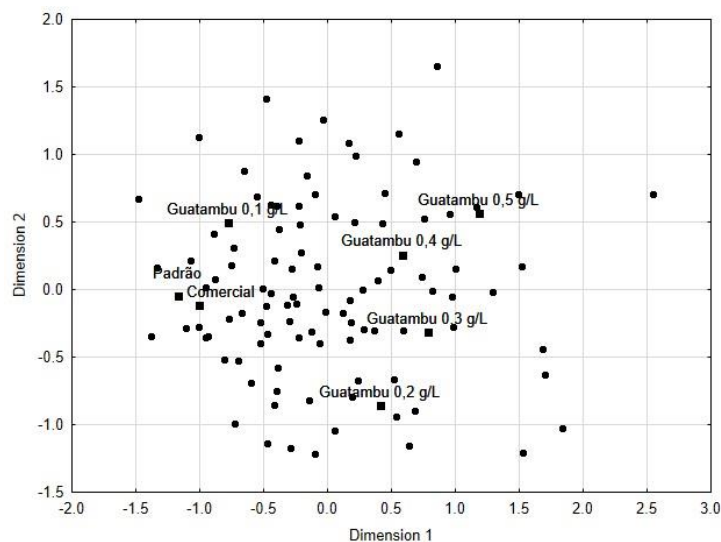
Fonte: Elaborada pelo autor.

O mapa de preferência interno para as amostras vai ao encontro do já exposto anteriormente, existe uma proximidade entre as amostras padrão e comercial, às quais apresentam boa aceitação sensorial, bem como uma baixa aceitação das amostras contendo 0,5 gL⁻¹ dos respectivos substituintes.

Figura 30- Mapa de preferência interno da aceitação global das amostras contendo diferentes concentrações de pau tenente (a) e guatambu (b)



(a)



(b)

Fonte: Elaborada pelo autor.

5.3. Comparação entre os diferentes substituintes de lúpulo

A partir dos estudos das diferentes concentrações de cada substituinte, foram definidas as melhores concentrações de cada uma delas, para serem usadas como substituintes de lúpulo na cerveja. São elas: carqueja 2 gL^{-1} , quina $0,1 \text{ gL}^{-1}$, pau tenente $0,1 \text{ gL}^{-1}$, guatambu $0,1 \text{ gL}^{-1}$ e alcachofra 1 gL^{-1} .

Os diferentes substituintes foram avaliados entre si, com intuito de verificar qual deles seria o melhor indicado para se usar como substituinte de lúpulo em cerveja artesanal.

5.3.1. Caracterização físico-química

A caracterização físico-química das amostras nos permite observar que todos os substituintes, nas concentrações avaliadas, têm grande potencial para uso no processo cervejeiro (Tabela 21).

Strong e England (2015) definem que o estilo *American lager* deve ter extrato original entre 10 e 12,5 °P, extrato aparente entre 1 e 2,5 °P, amargor entre 8 e 18 IBU e teor alcoólico entre 4,2 a 5,3 °GL.

O extrato original das amostras ficou em torno de 12 °P, um teor de extrato final de aproximadamente 2,7 °P, com teor alcoólico próximo a 5 °GL. Logo, é possível afirmar que todas as amostras se encontram dentro do estilo proposto neste estudo.

Os valores de extrato original, extrato aparente, teor alcoólico e atenuação aparente não diferiram estatisticamente entre as amostras ($p < 0,05$). Algo semelhante ao observado por Adenuga, Olaleye e Adepoju (2010) e Okafor et al. (2016) ao avaliarem o potencial de utilização de algumas plantas amargas africanas como potenciais substituintes de lúpulo.

A amostra comercial se diferencia estatisticamente das demais nos atributos cor e turbidez, apresentando menor turbidez e cor mais clara. Isto acontece, provavelmente, devido ao uso de adjuntos e ao processo de filtração das cervejas, que não ocorreu nas amostras testadas neste experimento.

A cor e a turbidez também apresentaram diferenças significativas entre as amostras contendo substituintes de lúpulo, sendo a cor mais clara e a menor turbidez para cerveja contendo carqueja, 14,4 EBC e 20,53 EBC, respectivamente. A mais escura foi a cerveja contendo alcachofra com 19,0 EBC e a amostra com maior turbidez a cerveja elaborada com quina, com 23,57 EBC.

Tabela 21 - Caracterização físico-química de cervejas com diferentes substituintes de lupulo

Amostras	EO	EA	AA	TA	Cor	T	pH	A
Padrão	12,0 (0,15) ^a	2,69 (0,08) ^a	77,51 (1,77) ^a	5,0 (0,17) ^a	18,1 (0,106) ^a	18,97 (0,379) ^a	4,32 (0,04) ^a	12,45 (0,919)
Quina	12,0 (0,15) ^a	2,68 (0,13) ^a	77,61 (0,96) ^a	5,0 (0,35) ^a	16,4 (1,681) ^{ba}	23,57 (0,208) ^b	4,27 (0,02) ^a	-----
Alcachofra	11,7 (0,11) ^a	2,69 (0,08) ^a	77,11 (0,49) ^a	4,9 (0,13) ^a	19,0 (0,071) ^a	21,43 (1,069) ^{bc}	4,27 (0,02) ^a	-----
Guatambu	12,0 (0,10) ^c	2,67 (0,06) ^a	77,77 (0,65) ^a	5,0 (0,09) ^a	16,7 (0,212) ^{ab}	20,53 (1,704) ^{ac}	4,29 (0,04) ^a	-----
Pau Tenente	11,8 (0,05) ^a	2,68 (0,04) ^a	77,38 (0,45) ^a	4,9 (0,22) ^a	18,8 (1,132) ^a	20,57 (0,306) ^{ac}	4,26 (0,02) ^a	-----
Carqueja	11,8 (0,20) ^a	2,63 (0,09) ^a	77,71 (0,44) ^a	5,0 (0,15) ^a	14,4 (0,584) ^b	20,23 (0,252) ^{ac}	4,26 (0,01) ^a	-----
Comercial	-----	-----	-----	4,6 (0,13) ^a	6,10 (0,354) ^c	0,610 (0,051) ^d	4,21 (0,02) ^a	10,98 (1,945)

* Em que: EO = extrato original (°P), EA = extrato aparente (°P), AA = atenuação aparente (%), TA = teor alcoólico (°GL), Cor = cor (EBC), T = turbidez (EBC) e A = amargor (IBU); ** Média (desvio padrão); ***As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

5.3.2. Análise sensorial

5.3.2.1. Aceitação

A aceitação sensorial das amostras foi realizada para os parâmetros cor, aroma, sabor e aceitação global. A aceitação sensorial do atributo cor das amostras não diferenciou significativamente, obtendo escores sensoriais ancorados entre o “gostei ligeiramente” e o “gostei moderadamente” (Tabela 22).

Os atributos aroma, sabor e aceitação global variaram entre os mesmos escores sensoriais observados no atributo cor. A única exceção se dá para a cerveja utilizando alcachofra como substituinte de lúpulo, obtendo uma menor aceitação para os três atributos em relação às demais amostras.

A análise de *clusters* apresenta a formação de apenas um agrupamento (Figura 31), entre as amostras contendo quina e pau tenente, as quais obtiveram aceitação sensorial próxima.

O mapa de preferência interno (Figura 32) para aceitação global confirma novamente o resultado apresentado na Tabela 21. O mapa apresenta boa dispersão dos dados, com pontos presentes nos quatro quadrantes.

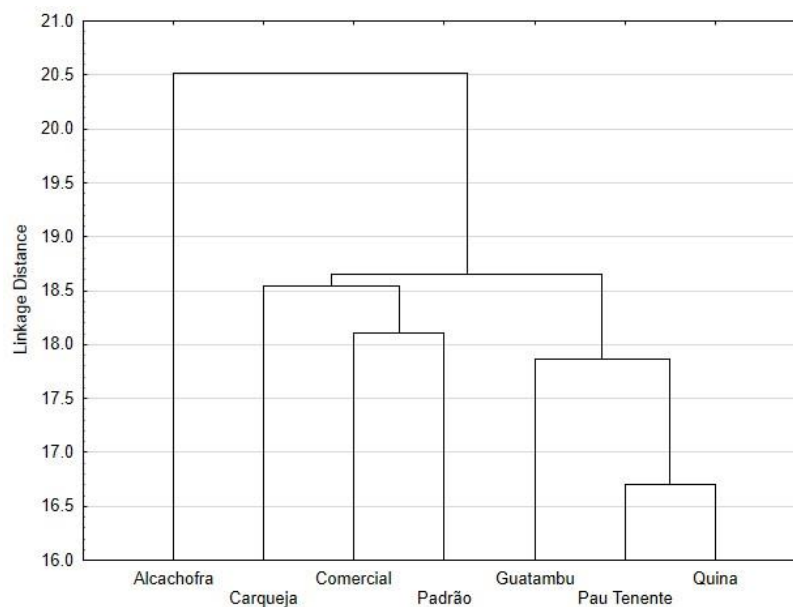
Pode-se verificar que a amostra elaborada com alcachofra foi a que obteve menor aceitação global, ficando em um ponto mais periférico do mapa de preferência. Por outro lado, as amostras padrão, guatambu e carqueja foram as que obtiveram melhor aceitação global de acordo com o mapa de preferência interno, observando-se um grande número de provadores próximos a essas amostras.

As amostras comercial, quina e pau tenente, apesar de apresentarem melhor aceitação sensorial em relação a alcachofra, aparecem ligeiramente mais afastadas dos julgadores quando comparadas às amostras mais apreciadas.

Por fim, a Tabela 23 mostra a avaliação da intensidade de amargor, a intensidade ideal de amargor e a intenção de compra das amostras. A intensidade de amargor de todas as amostras foi classificadas entre os escores “suave” e “suave-moderado” e todas apresentaram intensidade próxima a ideal. A amostra considerada com maior intensidade de amargor foi a contendo alcachofra, com intensidade de 1,52 e a amostra

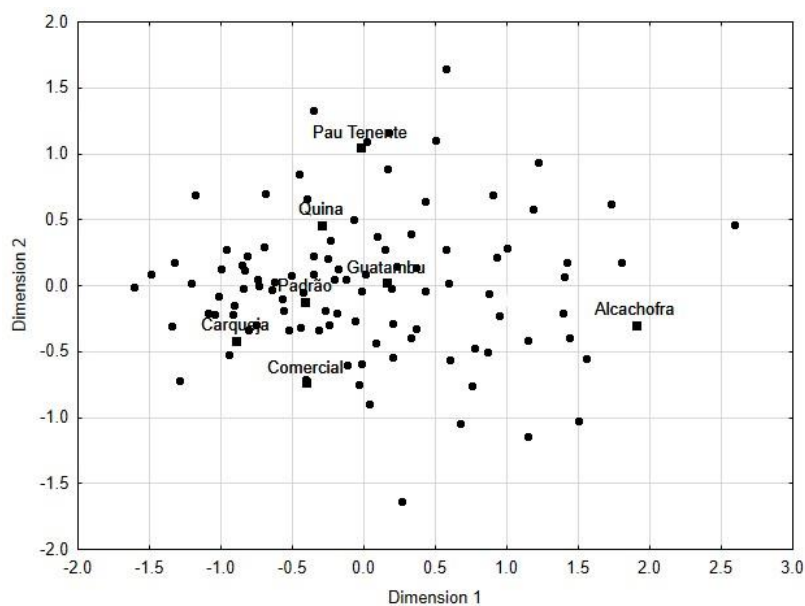
com amargor mais próxima ao ideal foi a contendo quina, apesar das mesmas não diferirem estatisticamente em relação às demais ($p < 0,05$).

Figura 31 - Dendograma da aceitação global das amostras contendo diferentes substituintes de lúpulo



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 32 - Mapa de preferência interno da aceitação global das amostras contendo diferentes substituintes de lúpulo



Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 22 - Aceitação sensorial das cervejas.com diferentes substuintes de lúpulo

Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Aceitação Global
Padrão	6,74 (1,40) ^a	6,50 (1,40) ^a	6,27 (1,84) ^a	6,43 (1,53) ^a
Quina	6,65 (1,55) ^a	6,55 (1,51) ^a	6,14 (2,07) ^a	6,29 (1,67) ^a
Alcachofra	6,71 (1,53) ^a	5,51 (1,97) ^b	5,05 (1,71) ^b	5,49 (2,-3) ^b
Guatambu	6,88 (1,37) ^a	6,62 (1,43) ^a	6,25 (2,09) ^a	6,28 (1,58) ^a
Pau Tenente	6,61 (1,54) ^a	6,25 (1,67) ^a	6,25 (2,00) ^a	6,32 (1,83) ^a
Carqueja	6,75 (1,47) ^a	6,68 (1,60) ^a	6,20 (1,84) ^a	6,45 (1,58) ^a
Comercial	7,01 (1,49) ^a	6,57 (1,62) ^a	6,35 (1,71) ^a	6,51 (1,51) ^a

* Média (desvio padrão); ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

A intenção de compra das amostras seguiu o observado na aceitação global. A intenção de compra entre as amostras não variou, exceto para amostra contendo alcachofra como substituinte de lúpulo, que obteve valor inferior às demais.

Tabela 23 - Intenção de compra, intensidade de amargor e ideal de intensidade de amargor para cervejas com diferentes substituintes de lúpulo

Amostra	Intensidade de Amargor	Intensidade de Amargor Ideal	Intenção de compra
Padrão	1,40 (0,79) ^a	4,64 (0,69) ^a	3,65 (1,06) ^a
Quina	1,48 (0,81) ^a	5,01 (0,89) ^a	3,42 (1,15) ^a
Alcachofra	1,52 (0,80) ^a	4,72 (0,80) ^a	2,83 (1,26) ^b
Guatambu	1,33 (0,77) ^a	4,51 (0,77) ^a	3,31 (1,05) ^a
Pau Tenente	1,36 (0,81) ^a	4,87 (0,81) ^a	3,35 (1,14) ^a
Carqueja	1,24 (0,76) ^a	4,69 (0,76) ^a	3,54 (1,07) ^a
Comercial	1,30 (0,69) ^a	4,51 (0,77) ^a	3,48 (1,17) ^a

* Média (desvio padrão); ** As médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade

5.3.2.2. Análise descritiva

Os atributos avaliados pelo perfil descritivo otimizado foram cor da cerveja, turbidez, aroma e sabor oxidado, aroma e sabor herbal, gosto ácido, gosto amargo, sabor cítrico e corpo.

Todos atributos apresentaram diferença significativa entre ao menos uma das amostras ($p < 0,05$) (Tabela 24). O p-valor da interação, quando não significativo, indica que ao menos algum julgador avaliou as amostras de forma diferente dos demais. Este fato ocorreu para os atributos turbidez, aroma herbal e corpo. Quando isto ocorre, recalcula-se o p-valor considerando o quadrado médio da interação para melhorar a confiabilidade do teste (STONE; SIDEL, 1993).

Os valores médios obtidos pelas amostras para cada atributo testados são expostos na Tabela 25, na qual se vê que a amostra contendo carqueja obteve maior média para atributos gosto amargo, aroma e sabor herbal.

Tabela 24 – Resumo da análise de variância para os atributos sensoriais avaliados

Atributo	FV	GL	QM	p-valor	p-valor
Cor da cerveja	Amostra	6	142,767	<0,0001	
	Interação	90	3,575	<0,0001	
Turbidez	Amostra	6	181,405	<0,0001	<0,0001
	Interação	90	1,476	0,0603	
Aroma oxidado	Amostra	6	72,698	<0,0001	
	Interação	90	3,104	<0,0001	
Aroma herbal	Amostra	6	153,925	<0,0001	<0,0001
	Interação	90	3,822	0,0234	
Gosto ácido	Amostra	6	205,034	<0,0001	
	Interação	90	2,880	0,0010	
Gosto amargo	Amostra	6	132,752	<0,0001	
	Interação	90	5,378	<0,0001	
Sabor cítrico	Amostra	6	98,059	<0,0001	
	Interação	90	4,522	<0,0001	
Sabor Oxidado	Amostra	6	88,253	<0,0001	
	Interação	90	4,801	<0,0001	
Sabor Herbal	Amostra	6	181,217	<0,0001	
	Interação	90	4,314	<0,0001	
Corpo	Amostra	6	31,282	<0,0001	<0,0001
	Interação	90	4,041	0,0234	

A amostra comercial, por sua vez, obteve maior média para cor de cerveja, aroma e sabor oxidado. A amostra contendo quina se destaca nos atributos sabor cítrico e gosto ácido. A amostra contendo alcachofra teve maior destaque no atributo turbidez, enquanto as amostras contendo guatambu e pau tenente também teve como atributos mais marcantes o gosto ácido e o sabor cítrico.

A análise de componentes principais mostra que o componente principal 1 explica 49,9 % da variação dos dados e o componente principal 2 explica 35,16 % da variação dos dados, totalizando 85,06 % da variação total dos dados, evidenciando a alta explicação da variação ocorrida entre as amostras.

Tabela 25 – Notas médias dos atributos sensoriais avaliados no perfil descritivo otimizado

Atributos	Carqueja	Quina	Guatambu	Pau Tenente	Comercial	Lúpulo	Alcachofra
Cor da cerveja	3,91	3,71	2,44	3,16	7,47	5,77	5,40
Turbidez	5,83	2,06	2,28	3,10	1,02	4,69	5,95
Aroma oxidado	0,75	1,40	1,35	1,28	4,40	1,63	0,98
Aroma herbal	6,66	2,14	2,17	1,92	1,75	1,70	2,00
Gosto ácido	1,07	6,04	3,67	4,61	0,80	0,82	3,30
Gosto amargo	6,13	1,64	1,61	1,65	3,27	3,23	1,80
Sabor cítrico	0,90	4,18	3,09	3,88	1,08	1,03	3,17
Sabor Oxidado	1,56	1,05	1,61	1,22	4,93	2,63	1,50
Sabor Herbal	6,99	1,70	1,73	1,54	2,20	2,39	1,91
Corpo	3,95	2,90	2,29	2,46	3,29	4,58	3,20

O componente principal 1 é explicado por dois grupos de amostras, um formado pelos atributos gosto ácido e sabor cítrico, com correlação positiva, e outro formado por aroma herbal, sabor herbal, corpo e gosto amargo, com correlação negativa (Figura 33). O componente principal 2 por sua vez é explicado pelos atributos aroma e sabor oxidado, com correlação negativa.

As cervejas contendo quina, pau tenente e guatambu são caracterizadas por apresentarem como características principais o sabor cítrico e gosto ácido, e a amostra contendo alcachofra também tem suas principais características descritas por estes atributos, no entanto em menor proporção que os demais.

Da mesma forma, verifica-se que estas amostras têm valores baixos para todos os demais atributos sensoriais, como gosto amargo, sabor e aroma herbal e oxidado e corpo.

As amostras padrão carqueja e comercial são as mais bem caracterizadas pelo atributo gosto amargo, sendo este mais presente na amostra de carqueja em relação às demais.

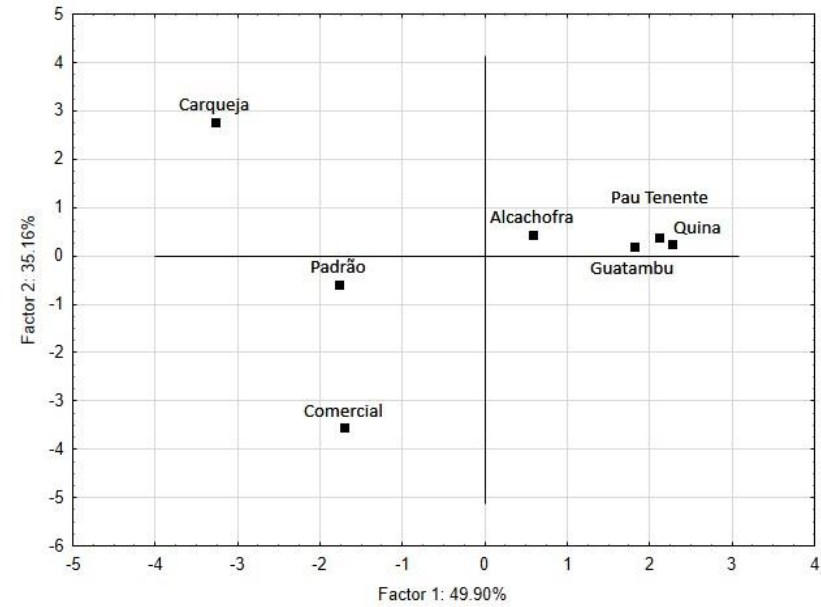
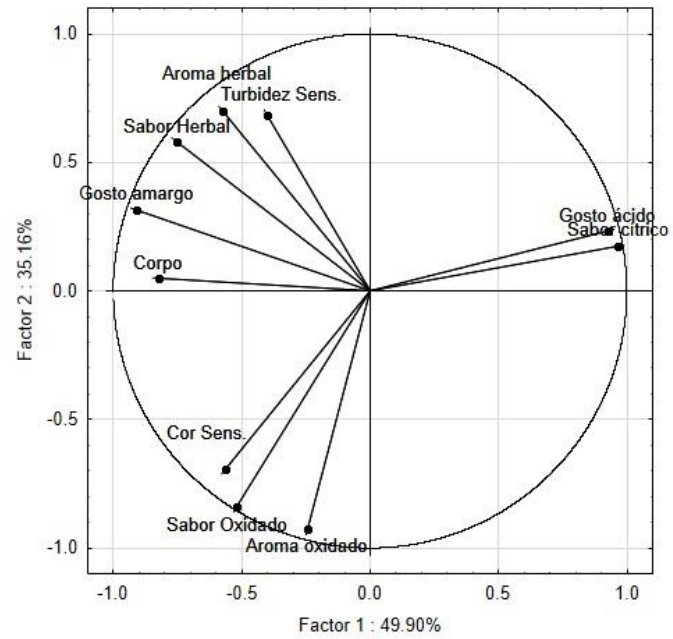
Além disso, a amostra de cerveja contendo carqueja é caracterizada por sabor e aroma herbal, enquanto a amostra comercial é caracterizada por apresentar elevado aroma e sabor oxidado.

O aroma e sabor oxidado, também descrito como aroma e sabor de papelão, é fruto da oxidação da cerveja ao longo de seu transporte e armazenamento, sendo comumente apresentado em cervejas tipo american lager comerciais (ARAÚJO; SILVA; MINIM, 2003)

Por fim, as amostras padrão e alcachofra estão alocadas mais ao centro do mapa de preferencia interno, demonstrando que as duas possuem características sensoriais menos pronunciadas para todos os atributos, em relação às demais amostras avaliadas. A amostra padrão possui características mais próximas à cerveja contendo carqueja e à comercial e a cerveja com alcachofra, características mais próximas às cervejas consideradas mais ácidas.

Desta forma, fica evidente que as características amargor, sabor e aroma herbal, sabor e aroma oxidado são atributos que geram maior aceitação das amostras por parte do consumidor, enquanto uma maior acidez da amostra resulta em menor aceitação para cervejas para o consumidor.

Figura 33 – Análise de componentes principais do perfil descritivo otimizado



Fonte: Elaborada pelo autor.

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados expostos, conclui-se que é possível a elaboração de cervejas com o uso de plantas amargas em substituição ao lúpulo, obtendo-se uma cerveja de excelente qualidade, que apresente características físico-químicas satisfatórias e boa aceitação sensorial.

Todos os substituintes avaliados conseguiram, em ao menos uma das concentrações testadas, boa aceitação sensorial, ficando isto mais evidente na comparação entre os diferentes substituintes de lúpulo.

Existe uma tendência de quão maior a adição dos substituintes de lúpulo, menor a aceitação sensorial da bebida, por isso, deve-se ter atenção à quantidade de substituintes utilizados.

A carqueja foi o substituinte que se apresentou com maior potencial de utilização, sendo bem avaliada sensorialmente em todos os testes realizados, com a cerveja apresentando forte característica herbal, enquanto que a alcachofra foi a menos eficiente neste aspecto, tendo menor aceitação sensorial em relação às demais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADENUGA, W.; OLALEYE, O. N.; ADEPOJU, P. A. Utilization of bitter vegetable leaves (*Gongronema latifolium*, *Vernonia amygdalina*) and *Garcinia kola* extracts as substitutes for hops in sorghum beer production. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 51, p. 8819–8823, 2010.

ALCÂNTARA, V. D. C.; MENEZES, E. G. T. Vinho de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck): um estudo com diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 6, p. 780–785, 3 nov. 2017.

ALICIEO, T. V. R. et al. Análise do uso da membrana cerâmica de 0,2 µm na clarificação de cerveja. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 30, n. 2, p. 181–186, 2008.

ALMAGUER, C. et al. *Humulus lupulus* - a story that begs to be told. A review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 4, p. 289–314, 2014.

ALONSO J. R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: ISIS, 1998.

ALTINO, H. O. N. et al. Operações unitárias aplicadas a produção de cerveja artesanal. **CENAR**, v. 1, n. 1, p. 1–4, 2015.

ALVES, E. G. et al. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade anti-bacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1224–1229, 2008.

AMRI, B. et al. Effects of gibberellic acid on the process of organic reserve mobilization in barley grains germinated in the presence of cadmium and molybdenum. **South African Journal of Botany**, v. 106, p. 35–40, 2016.

ANICHE, G. N.; UWAKWE, G. U. Potential use of *Garcinia kola* as hop substitute in lager beer brewing. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 6, p. 323–327, 1990.

AOKI, N. et al. Programmed cell death in barley aleurone cells is not directly stimulated by reactive oxygen species produced in response to gibberellin. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 8, p. 615–618, 2014.

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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 121–128, 2003.

ARRUDA, I. N. Q.; PEREIRA JUNIOR, V. A.; GOULART, G. A. S. PRODUÇÃO DE CERVEJA COM ADIÇÃO DE POLPA DE MURICI (*Byrsonima ssp.*). **Interdisciplinar: Revista Eletrônica da Univar**, v. 2, n. 10, p. 129–136, 2013.

BAMFORTH, C. W. Nutritional aspects of beer — a review. **Nutrition Research**, v. 22, p. 227–237, 2002.

BARBOSA, L. F. et al. Estudo fitoquímico de *Aspidosperma illustre* (Apocynaceae). **Anais da 25 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2003.

BELTRAME, F. L. et al. Avaliação da qualidade das amostras comerciais de *Baccharis trimera* L. (Carqueja) vendidas no Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Science**, v. 31, n. 1, p. 37–43, 7 maio 2009.

BIESKI, I. G. C. et al. Ethnopharmacology of Medicinal Plants of the Pantanal Region (Mato Grosso, Brazil). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1–36, 2012.

BLANCO, C. A.; ROJAS, A.; NIMUBONA, D. Effects of acidity and molecular size on bacteriostatic properties of beer hop derivates. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 3, p. 144–149, mar. 2007.

BONA, C. M. et al. **Carqueja: Cultive esta idéia**. Curitiba: [s.n.].

BORTOLI, D. A. DA S. et al. Leveduras e produção de cervejas - Revisão. **Bioenergia em revista: diálogos**, v. 3, n. 1, p. 45–58, 2013.

BOTSARIS, A. S. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 3, n. 1, p. 18, 2007.

BOULTON, C.; QUAIN, D. **Brewing Yeast and Fermentation**. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd, 2006.

BRAEKEN, L.; VAN DER BRUGGEN, B.; VANDECASTEELE, C. Regeneration of brewery waste water using nanofiltration. **Water Research**, v. 38, n. 13, p. 3075–3082, jul. 2004.

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

BRANDAM, C. et al. An original kinetic model for the enzymatic hydrolysis of starch during mashing. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 1, p. 43–52, 2003.

BRIGGS, D. E. et al. **Brewing: science and practice**. 1. ed. New York: CRC Press, 2004.

BRUNELI, L. T.; MANSANO, A. R.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização físico-química de cervejas elaboradas com mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 19–27, 2014.

CARVALHO, D. O. et al. Further insights into the role of melanoidins on the antioxidant potential of barley malt. **Food Chemistry**, v. 160, p. 127–133, out. 2014.

CARVALHO, D. S. DE; ZAMBIAZI, R. C. Avaliação do processo fermentativo de cerveja pilsen pelo uso de diferentes concentrações de *Saccharomyces Cerevisiae*. **Alim.Nutr.**, v. 22, n. 3, p. 351–357, 2011.

CARVALHO, G. B. M. et al. Banana as adjunct in beer production: Applicability and performance of fermentative parameters. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 155, n. 1–3, p. 356–365, 2009.

CARVALHO, G. B. M.; BENTO, C. V.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Elementos Biotecnológicos Fundamentais No Processo Cervejeiro: 1º Parte – As Leveduras. **Revista Analytica**, v. 25, p. 36–42, 2006.

CARVALHO, L. G. Produção de Cerveja. **REDETEC -Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro**, 2007.

CIMINI, A.; MORESI, M. Combined enzymatic and crossflow microfiltration process to assure the colloidal stability of beer. **LWT**, v. 90, p. 132–137, abr. 2018.

COMRIE, A. A. D. BREWING LIQUOR-A REVIEW*. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 73, n. 4, p. 335–346, 8 jul. 1967.

COSENZA, G. P. et al. Bitter plants used as substitute of *Cinchona* spp. (quina) in Brazilian traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, n. 3, p. 790–796, out. 2013.

COSTA, R. S. et al. Caracterização física, química e físico-química do extrato seco por nebulização (spray-drying) de *Cynara scolymus* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 3, p. 169–174, 2009.

COZZOLINO, D.; ROUMELIOTIS, S.; EGLINTON, J. K. The role of total lipids and fatty acids profile on the water uptake of barley grain during steeping. **Food Chemistry**, v. 151, p. 231–235, 2014.

D'AVILA, R. et al. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 60–68, 2012.

DA SILVA, R. DE C. DOS S. N.; MINIM, V. P. R.; DELLA LUCIA, S. M. Perfil Descritivo Otimizado. In: MINIM, V. P. R.; DA SILVA, R. DE C. DOS S. N. (Eds.). . **Análise Sensorial Descritiva**. Viçosa: UFV, 2016. p. 198–220.

DAL RI, G. S.; ROCHA, N. T. F.; VOLPI, R. . A. **O processo de malteação**. [s.l.] Companhia cervejeira BRAHMA Maltaria Navegantes, 1995.

DANERI-CASTRO, S. N. et al. Activity-based protein profiling of hydrolytic enzymes induced by gibberellic acid in isolated aleurone layers of malting barley. **FEBS Letters**, ago. 2016.

DASARI, S.; KÖLLING, R. Cytosolic localization of acetohydroxyacid synthase Ilv2 and its impact on diacetyl formation during beer fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 3, p. 727–731, 2011.

DE KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 108–112, fev. 2000.

DE KEUKELEIRE, J. et al. Relevance of Organic Farming and Effect of Climatological Conditions on the Formation of α -Acids, β -Acids, Desmethylxanthohumol, and Xanthohumol in Hop (*Humulus lupulus* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 61–66, 10 jan. 2007.

DE MORI, C.; MINELLA, E. Aspectos econômicos e conjunturais da cultura da aveia. **Embrapa Trigo, Documentos Online**, 2012.

DISLAKEN, D. **Manual do Cervejeiro Caseiro**. [s.l.: s.n.].

DONG, J. J. et al. Predictive analysis of beer quality by correlating sensory evaluation with higher alcohol and ester production using multivariate statistics methods. **Food Chemistry**, v. 161, p. 376–382, 2014.

DRAGONE, G. et al. Revisão: Produção de Cerveja: Microrganismos Deteriorantes e Métodos de Detecção. **Braz. J. Food Technol.**, v. 10, n. 4, p. 240–251, 2008.

DRESEL, M. et al. Comparison of the Analytical Profiles of Volatiles in Single-Hopped Worts and Beers as a Function of the Hop Variety. **Brewing Science**, v. 68, n. 1–2, p. 8–28, 2015.

DUNN, A. R. Packing Tachnology. In: PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. (Eds.). . **Handbook of Brewing**. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2006. p. 563–606.

DUONG, C. T. et al. Identification of Sc-type ILV6 as a target to reduce diacetyl formation in lager brewers' yeast. **Metabolic Engineering**, v. 13, n. 6, p. 638–647,

2011.

DURAND, G. A. et al. Dynamic optimization of the mashing process. **Food Control**, v. 20, n. 12, p. 1127–1140, 2009.

EATON, B. An Overview of Brewing. In: STEWART, G. G.; PRIEST, F. G. (Eds.). . **Handbook of Brewing**. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2006. p. 77–90.

EBC. **Analytica-EBC**. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, 2010.

ERNST, E. Die Artischocke – eine Heilpflanze mit Geschichte und Zukunftsperspektiven,. **naturamed**, v. 7, p. 1–4, 1995.

EYRES, G. T.; MARRIOTT, P. J.; DUFOUR, J. P. Comparison of odor-active compounds in the spicy fraction of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oil from four different varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6252–6261, 2007.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. [s.l.] Editora Artmed, 2010.

FETTERS, T. Packaging: A Historical Perspective. In: PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. (Eds.). . **Handbook of Brewing**. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2006. p. 551–562.

FILLAUDEAU, L. et al. Investigation of rotating and vibrating filtration for clarification of rough beer. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 1, p. 206–217, 2007.

FILLAUDEAU, L.; BLANPAIN-AVET, P.; DAUFIN, G. Water , wastewater and waste management in brewing industries. **Journal of Cleaner Production**, v. 14, p. 463–471, 2006.

FINTELMANN, V. Antidyspeptische und lipidsenkende Wirkungen von Artischockenblätter-extrakt. **Zeitschrift für Allgemeinmedizin**, v. 72, p. 48–57, 1996.

FROUFE, L. C. M. Caracterização anatômica do lenho de *Bathysa cuspidata* (A. St. -Hil.) Hook. F. ex. K. Schum. (Rubiaceae) no domínio da Mata Atlântica. **Embrapa Florestas Comunicado Técnico**, p. 1–5, 2015.

FURLAN, R. et al. Uso del bioensayo de *Artemia salina* para la detección de productos naturales con actividad biológica de la familia Simaroubaceae. **Anales de S.A.I.P.A.**, v. 12, p. 293–312, 1994.

GASSARA, F. et al. Chitin and chitosan as natural flocculants for beer clarification. **Journal of Food Engineering**, v. 166, n. 2015, p. 80–85, 2015.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. 7. ed. São Paulo: Nobel, 2010.

GENÉ, R. M. et al. Active, Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of its constituents. **Planta Medica**, v. 62, p. 232–235, 1996.

GERMANO FILHO, P. Estudos Taxonômicos do gênero *Bathysa* C. Presl. **Rodriguesia**, v. 50, n. 76/77, p. 49–75, 1999.

GONÇALVES, R. V. et al. Hepatoprotective effect of *Bathysa cuspidata* in a murine model of severe toxic liver injury. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 93, n. 5, p. 370–376, out. 2012.

GOULART, M. R. et al. Metodologias para reutilização do resíduo de terra diatomácea proveniente da filtração e clarificação da cerveja. **Quimica Nova**, v. 34, n. 4, p. 625–629, 2011.

GUARIM-NETO, G. O saber tradicional pantaneiro: as plantas medicinais e a educação ambiental. **Revista eletrônica Mestrado Educação Ambiental**, v. 17, p. 71–89, 2006.

HASELEU, G.; INTEL MANN, D.; HOFMANN, T. Structure determination and sensory evaluation of novel bitter compounds formed from α -acids of hop (*Humulus lupulus* L.) upon wort boiling. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 71–81, 2009.

HIRALAL, L.; OLANIRAN, A. O.; PILLAY, B. Aroma-active ester profile of ale beer produced under different fermentation and nutritional conditions. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 117, n. 1, p. 57–64, 2014.

HOPSTEINER. **GUIDELINES For Hop Buying**. [s.l.] Hopsteiner, 2015.

HOUGH, J. S.; HOWARD, G. A.; SLATER, C. A. BACTERIOSTATIC ACTIVITIES OF HOP RESIN MATERIALS. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 63, n. 4, p. 331–333, 8 jul. 1957.

HUSAIN, G. M. et al. Antidiabetic Activity of Standardized Extract of *Quassia amara* in Nicotinamide-Streptozotocin-induced Diabetic Rats. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 12, p. 1806–1812, dez. 2011.

IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo,: SES - CCD –IAL, 2005.

INTEL MANN, D. et al. ^{18}O stable isotope labeling, quantitative model experiments, and molecular dynamics simulation studies on the trans-specific degradation of the bitter tasting iso- α -acids of beer. **Journal of agricultural and**

food chemistry, v. 57, n. 22, p. 11014–23, 2009.

IZYDORCZYK, M. S.; DEXTER, J. E. Barley: Milling and Processing. In: WRIGLEY, C. et al. (Eds.). . **Encyclopedia of Food Grains**. 2. ed. Oxford: [s.n.]. p. 434–445.

JÄÄSKELÄINEN, A. S. et al. Endosperm and aleurone cell structure in barley and wheat as studied by optical and Raman microscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 57, n. 3, p. 543–550, 2013.

JASKULA, B. et al. A Kinetic Study on the Isomerization of Hop α -Acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 15, p. 6408–6415, ago. 2008.

JONES, B. L. Endoproteases of barley and malt. **Journal of Cereal Science**, v. 42, n. 2, p. 139–156, 2005.

KOLPIN, K. M.; SHELLHAMMER, T. H. The Human Bitterness Detection Threshold of Iso- α -acids and Tetrahydro-iso- α -acids in Lager Beer. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 67, n. 4, p. 200–205, 2009.

KRAFT, K. Artichoke leaf extract - Recent findings reflecting effects on lipid metabolism, liver and gastrointestinal tracts. **Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, v. 4, n. 4, p. 369–378, 1997.

KUGELMEIER, C. L. et al. Avaliação da Brassagem e Fermentação na Produção de Cerveja Pilsen em Microcervejaria. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 3, p. 220–223, 2013.

KUNTZ, R. J.; BAMFORTH, C. W. Time course for the development of enzymes in barley. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 113, n. 2, p. 196–205, 2007.

KUNZE, W. La cerveza terminada. In: KUNZE, W. (Ed.). . **Tecnología para Cerveceros y Malteros**. Berlín: VLB Berlin, 2006. p. 826–885.

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. Berlin: VLB Berlin, 2014.

KUNZE, W.; WAINWRIGHT, T. **Technology brewing and malting**. Berlin: VLB Berlin, 1996.

KUSKOSKI, E. M. ET AL. Characterization of anthocyanins J, from the fruits of baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg). **Agric Food Chem**, v. 51, p. 5450–5454, 2003.

LEI, H. et al. Fermentation performance of lager yeast in high gravity beer fermentations with different sugar supplementations. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 122, n. 5, p. 583–588, 2016.

LEIPER, K. A.; MIEDL, M. Brewhouse Technology. In: STEWART, G. G.;

PRIEST, F. G. (Eds.). . **Handbook of Brewing**. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2006. p. 383–446.

LIU, S. Q. Impact of yeast and bacteria on beer appearance and flavour. In: HILL, A. E. (Ed.). . **Brewing Microbiology: Managing Microbes, Ensuring Quality and Valorising Waste**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 357–369.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. São Paulo: Plantarum, 2002.

MACEDO, E. G.; POTIGUARA, R. C. DEVILHENA; NETO, O. DA R. Anatomia Foliar de Quassia amara L . (Simaroubaceae), uma espécie medicinal e inseticida. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ser. Ciências Naturais**, v. 1, n. 1, p. 9–18, 2005.

MACGREGOR, A. W. Barley. In: CABALLERO, B. (Ed.). . **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. 1. ed. [s.l.] Academic Press, 2003. p. 379–382.

MAPA, M. DA A. P. E A. **Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994** Brasil, 1994. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L8918.htm>

MARTIN BAUER GROUP. Alcachofra (Cynara scolymus L .) – Importantes parâmetros de controle de qualidade na escolha do extrato de Alcachofra. 2016.

MAYER, H. et al. Development of an all rice malt beer: A gluten free alternative. **LWT - Food Science and Technology**, v. 67, p. 67–73, 2016.

MCGOVERN, P. E. et al. Fermented beverages of pre- and proto-historic China. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 51, p. 17593–8, 2004.

MEILGAARD, M. C.; DALGLIESH, C. E.; CLAPPERTON, J. F. BEER FLAVOUR TERMINOLOGY 1. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 85, n. 1, p. 38–42, 2 jan. 1979.

MEUSSDOERFFER, F. G. A Comprehensive History of Beer Brewing. In: ESSLINGER, H. M. (Ed.). . **Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009. p. 1–42.

MITTER, W.; COCUZZA, S. Dry hopping – A study of various parameters. **Brewing and Beverage Industry International**, v. 4, p. 70–74, 2013.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. 1. ed. São Paulo: Larousse, 2009.

MORAIS, J. S. O Lúpulo: Cultivares e Extrato. **Livro de Actas**, p. 11–21, 2015.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. **Medicinal plants of Brazil**.

Michigan: Reference Publications, 2000.

MUNROE, J. H. Fermentation. In: PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. (Eds.). . **Handbook of Brewing**. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2006a. p. 487–524.

MUNROE, J. H. Aging and Finishing. In: PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. (Eds.). . **Handbook of Brewing**. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2006b. p. 525–550.

NOLDIN, V. F. et al. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. **Quimica Nova**, v. 26, n. 3, p. 331–334, 2003.

OKAFOR, V. N. et al. Journal of Advanced Chemical Sciences Comparative Studies of the Physicochemical Properties of Beers Brewed with Hop Extracts and Extracts from Four Selected Tropical Plants. **Journal of Advanced Chemical Sciences**, v. 2, n. 4, p. 382–386, 2016.

OLADOKUN, O. et al. Modification of perceived beer bitterness intensity, character and temporal profile by hop aroma extract. **Food Research International**, v. 86, p. 104–111, 2016.

OLANIRAN, A. O.; MAHARAJ, Y. R.; PILLAY, B. Effects of fermentation temperature on the composition of beer volatile compounds, organoleptic quality and spent yeast density. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 2, 2011.

OLIVER, G. **THE OXFORD COMPANION TO BEER**. 1. ed. New York: Oxford University Press, Inc, 2011.

ORTEGA-HERAS, M. . L.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. **Wort Production** Elsevier, , 2003. (Nota técnica).

OSBURN, K. et al. Primary souring: A novel bacteria-free method for sour beer production. **Food Microbiology**, v. 70, p. 76–84, 2018.

PAIVA JÁCOME, R. L. R. et al. Estudo químico e perfil cromatográfico das cascas de *Aspidosperma parvifolium* A. DC. (“pau-pereira”). **Quimica Nova**, v. 27, n. 6, p. 897–900, 2004.

PAL, D.; KUMAR, S.; VERMA, R. P. S. Pusa Losar (BHS 380) - The first dual-purpose barley variety for northern hills of India. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 82, n. 2, p. 164–165, 2012.

PALMER, G. H. Barley and Malt. In: STEWART, G. G.; PRIEST, F. G. (Eds.). . **Handbook of Brewing**. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2006a. p. 131–160.

PALMER, J. J. **How to Brew: Everything you need to know to brew beer right**

the first time. [s.l: s.n.].

PIACENTINI, K. C. et al. Fungi and the natural occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). **Food Chemistry**, v. 187, p. 204–209, 2015.

PIDDOCKE, M. P. et al. Physiological characterization of brewer's yeast in high-gravity beer fermentations with glucose or maltose syrups as adjuncts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 3, p. 453–464, 3 set. 2009.

POREDA, A. et al. Corn grist adjunct - application and influence on the brewing process and beer quality. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 1, p. 77–81, 2014.

POSTULKOVA, M. et al. Technological possibilities to prevent and suppress primary gushing of beer. **Trends in Food Science and Technology**, v. 49, p. 64–73, 2016.

PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2006.

RE, R. ET AL. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

REBELLO, F. Produção de Cerveja. **Revista Agrogeoambiental**, p. 145–155, 2009.

REIS, R. C.; MINIM, V. P. R. Testes de aceitação. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). . (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2010. p. 66–82.

RIBEIRO, M. M. et al. Influência da embalagem na aceitação de diferentes marcas comerciais de cerveja tipo Pilsen. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 395–399, jun. 2008.

ROGERS, C. M. et al. Terminal acidic shock inhibits sour beer bottle conditioning by *Saccharomyces cerevisiae*. **Food Microbiology**, v. 57, p. 151–158, ago. 2016.

RUCKLE, L.; SENN, T. Hop acids can efficiently replace antibiotics in ethanol production. **International Sugar Journal**, v. 108, n. 1287, p. 139–147, 2006.

SANTOS, S. R. et al. Toxicological and phytochemical studies of *Aspidosperma subincanum* Mart. stem bark (Guatambu). **Pharmazie**, v. 64, n. 12, p. 836–839, 2009.

SANTURIO, J. M. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de

orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 803–808, jun. 2007.

SCHÖNBERGER, C. Hopfenstopfen – gut gestopft ist halb gewonnen. **Brauwelt**, v. 9–10, p. 251–254, 2012.

SILVA, P. H. A. DA; FARIA, F. C. DE. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 902–906, dez. 2008.

SILVA, R. DE C. DOS S. N. DA et al. Quantitative sensory description using the Optimized Descriptive Profile: Comparison with conventional and alternative methods for evaluation of chocolate. **Food Quality and Preference**, v. 30, n. 2, p. 169–179, dez. 2013.

SILVA, F. G. et al. Teor de flavonóides em populações silvestre e cultivada de carqueja [*Baccharis trimera* (Less .) DC .] coletadas nas estações seca e úmida. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 28, n. 2, p. 19–25, 2006.

SILVA, S. Estabelecimento e desenvolvimento in vitro de plântulas de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). **Scientia Amazonia**, v. 4, n. 2, p. 92–99, 2015.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SLEIMAN, M.; VENTURINI FILHO, W. G. Utilização de Extratos de Malte na Fabricação de Cerveja : Avaliação Físico-Química e Sensorial. v. 7, n. 2, p. 2003–2004, 2004.

STEINER, E.; BECKER, T.; GASTL, M. Turbidity and Haze Formation in Beer - Insights and Overview. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 116, n. 4, p. 360–368, 2010.

STEWART, G. .; RUSSELL, I. Brewer'S Yeast. **The IBD Blue Book on Yeast**, p. 1–108, 1998.

STONE, H. S.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. San Diego: Academic Press, 1993.

STORGARDS, E. Process hygiene control in beer production and dispensing. **VTT Publications**, n. 410, p. 1–107, 2000.

STRONG, G.; ENGLAND, K. **Beer Judge Certification Program 2015 Style Guidelines**.

TEIXEIRA, G. DA SILVA et al. Plantas medicinais, fitoterápicos e/ou nutracêuticos utilizados no controle da obesidade. **FLOVET - Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v. 1, n. 6, p. 27–42, 2014.

TERPINC, P. et al. LC–MS analysis of phenolic compounds and antioxidant activity of buckwheat at different stages of malting. **Food Chemistry**, v. 210, p. 9–17, nov. 2016.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. Herbarium. In: HERBARIUM, P. (Ed.). . **compêndio de fitoterapia**. Curitiba: [s.n.]. p. 85–86.

TSCHOPE, E. C. **Microcervejarias e Cervejarias. A História, a Arte e a Tecnologia**. São Paulo: Editora Aden, 2001.

VAN DEN BOOM, A. et al. The contribution of ready-to-eat cereals to daily nutrient intake and breakfast quality in a Mediterranean setting. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 25, n. 2, p. 135–43, 2006.

VAN OPSTAELE, F. et al. Production of novel varietal hop aromas by supercritical fluid extraction of hop pellets. Part 1: Preparation of single variety total hop essential oils and polar hop essences. **Cerevisia**, v. 37, n. 4, p. 97–108, jan. 2013.

VANBENEDEN, N. et al. Formation of 4-vinyl and 4-ethyl derivatives from hydroxycinnamic acids: Occurrence of volatile phenolic flavour compounds in beer and distribution of Pad1-activity among brewing yeasts. **Food Chemistry**, v. 107, n. 1, p. 221–230, 2008.

VENTURINI FILHO, W. G.; NOJIMOTO, T. Utilization of the wet milling malt steep water as raw material on brewing. v. 19, n. 2, p. 0–10, 1999.

VILLALPANDA, M. A. et al. Influencia del campo magnético estático en la turbidez de la cerveza de alta gravedad Influence. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 4, p. 273–277, 2013.

XIAO, Z.; STORMS, R.; TSANG, A. Corrigendum to “A quantitative starch – iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities”. **Analytical Biochemistry**, v. 362, n. MAY 2006, p. 146–148, 2006.

YAMAGUCHI, N.; SATOH-YAMAGUCHI, K.; ONO, M. In vitro evaluation of antibacterial, anticollagenase, and antioxidant activities of hop components (*Humulus lupulus*) addressing acne vulgaris. **Phytomedicine**, v. 16, n. 4, p. 369–376, abr. 2009.

YAMAUCHI, Y. et al. Rapid maturation of beer using an immobilized yeast bioreactor. 2. Balance of total diacetyl reduction and regeneration. **Journal of**

Biotechnology, v. 38, n. 2, p. 109–116, 1995.















ZHANG, D. et al. Improvement of beer flavour with extruded rice as adjunct.

Journal of the Institute of Brewing, v. 123, n. 2, p. 259–267, 2017.

ZSCHOERPER, O. P. **Apostila curso cervejeiro e malteador**. [s.l.] Ambev, 2009.

APÊNDICE A - Questionário de recrutamento de avaliadores

RECRUTAMENTO DE AVALIADORES / DEGUSTADORES					
O Laboratório de Bioprocessos do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, precisa formar uma equipe de degustadores. Caso tenha interesse em participar desta equipe, por favor, preencha este formulário e devolva aos responsáveis. Estaremos à disposição para eximir qualquer dúvida ou necessidade de informações adicionais					
Nome:					
e-mail:					
Faixa etária:	<input type="checkbox"/> 18-20	<input type="checkbox"/> 21-30	<input type="checkbox"/> 31-40	<input type="checkbox"/> 41-50	<input type="checkbox"/> 51-60
Endereço:					
Telefone:	Residencial:		Celular:		
Horários e dias da semana em que não poderá participar das sessões de análise					
2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
1 – Indique o quanto você gosta de cerveja:					
<input type="checkbox"/> gosto muito.		<input type="checkbox"/> Nem gosto/ nem desgosto		<input type="checkbox"/> Desgosto	
2 – Especifique os alimentos que você não pode comer ou beber por razões de saúde.					
3 – Você está tomando algum medicamento que contra-indique o consumo de bebidas alcoólicas? <input type="checkbox"/> Sim. <input type="checkbox"/> Não.					
4 - Você está tomando alguma medicação que possa influir em sua capacidade de perceber odores e aromas? Em caso positivo, explique, por favor.					
5 – Você se encontra em dieta por razões de saúde? Em caso afirmativo, explique, por favor.					
6 – Cite alimentos e/ou ingredientes que você desgosta muito:					
7 – Cite um alimento/bebida que seja condimentado:					
8 – Cite um alimento/bebida que seja amargo:					

9 – Cite um alimento/bebida que seja consistente:		
10 – Cite um alimento/bebida que seja suculento:		
11 – Cite um exemplo de cerveja escura:		
12 – Marque na linha à direita de cada figura, um trecho que indique a proporção da figura que foi coberta de preto (não use régua, use apenas sua capacidade visual de avaliar)		
a)		Nenhuma  Toda
b)		Nenhuma  Toda
c)		Nenhuma  Toda
AGORA VOCÊ !!		
d)		Nenhuma  Toda
e)		Nenhuma  Toda
f)		Nenhuma  Toda
g)		Nenhuma  Toda
13 – Indique se você possui:	Sim	Não
Diabetes	()	()
Hipoglicemia	()	()
Alergia e/ou intolerância a alimentos	()	()
Hipertensão	()	()
Enxaqueca	()	()
Doenças Bucais	()	()
Obrigada por sua colaboração!		
Prof. Vanildo Luiz Del Bianchi (17) 3221-2258	Guilherme Lorencini Schuina (28) 9 9938-5888	
Laboratório de Bioprocessos (17) 3221-2713		

APÊNDICE B – Termo de consentimento livre e esclarecido

(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/2012)

Você está sendo convidado a participar como voluntário do projeto de pesquisa “Avaliação do potencial de utilização de plantas amargas como substituinte de lúpulo na produção de cerveja artesanal tipo pilsner” sob responsabilidade do pesquisador Guilherme Lorencini Schuina. O estudo será realizado por meio de análises sensoriais de sete cervejas (1 marca comercial, 5 formulações utilizando substituinte de lúpulo e 1 formulação padrão – feita utilizando somente lúpulo) para avaliação da aceitabilidade dos mesmos. A pesquisa oferecerá riscos físicos mínimos a saúde, pois os produtos experimentados são de consumo comum, além de serem manipulados utilizando-se as Boas Práticas de Manipulação/Fabricação. Serão excluídos da pesquisa durante o recrutamento indivíduos com idade inferior a 18 anos, hipertensão arterial, diabetes, doença celíaca, intolerância à lactose, intolerância a qualquer um dos componentes da formulação, e/ou mais algum problema detectado nessa fase inicial. Além disso, ressalta-se que a quantidade de cerveja consumida neste estudo é inferior a quantidade considerada de consumo moderado. Você poderá consultar o pesquisador responsável em qualquer época, pessoalmente ou pelo telefone da instituição, para esclarecimento de qualquer dúvida. Você está livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa. Todas as informações por você fornecidas e os resultados obtidos serão mantidos em sigilo, e estes últimos apenas serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas. Você será informado de todos os resultados obtidos, independentemente do fato destes poderem mudar seu consentimento em participar da pesquisa. Você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre eventuais resultados decorrentes da pesquisa. No caso de eventual problema de saúde (efeito adverso) decorrente de sua participação nos testes sensoriais, você será encaminhado à Seção Técnica de Saúde (UNAMOS), situado à Rua Cristovão Colombo, 2265 – Jardim Nazareth – São José do Rio Preto/SP – Telefones (17) 3221.2415 – 3221.2416 – 3221.2485.

Diante das explicações, se você concorda em participar deste projeto, por favor, informe seus dados abaixo, coloque sua assinatura a seguir e rubrique cada página deste termo.

Nome: _____ R.G. _____

Endereço: _____ Fone: _____

E- mail: _____

São José do Rio Preto, _____ de _____ de 20__.

Usuário ou responsável legal

Pesquisador responsável

OBS.: Termo apresenta duas vias, uma destinada ao usuário ou seu representante e a outra ao pesquisador.

Nome: Guilherme Lorencini Schuina	Cargo/Função: Doutorando
Instituição: Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos/IBILCE/UNESP	
Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265 – Jd. Nazareth – São José do Rio Preto/SP – Telefone: (17) 3221 2557	
Projeto submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do IBILCE/UNESP. São José do Rio Preto – Fone: (17) 3221 2545/ 3221 2384	

APÊNDICE C - Questionário de frequência de consumo de cerveja**Questionário**

1) Nome: _____ 2) Idade: _____

3) Você gosta de Cerveja?

() Sim () Não

4) Com que frequência você costuma consumir cerveja?

() Sempre () Ocasionalmente
() Frequentemente () Nunca
() As vezes

5) Você tem habito de consumir cerveja artesanal?

() Sim () Não

6) Com que frequência você costuma consumir cerveja Artesanal?

() Sempre () Ocasionalmente
() Frequentemente () Nunca
() As vezes

7) Em relação ao amargor, você prefere cervejas:

() Muito amargas () Pouco amargas