



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Carolina Kurebayashi Velloso

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO CERVEJEIRO COM A
SUBSTITUIÇÃO PARCIAL E TOTAL DO LÚPULO POR
CARQUEJA**

São José do Rio Preto
2020

Carolina Kurebayashi Velloso

AVALIAÇÃO DO PROCESSO CERVEJEIRO COM A SUBSTITUIÇÃO PARCIAL E TOTAL DO LÚPULO POR CARQUEJA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciências de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências 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.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Lorencini
Schuina

São José do Rio Preto
2020

V441a

Velloso, Carolina Kurebayashi

Avaliação do Processo Cervejeiro com a Substituição Parcial e Total do Lúpulo por Carqueja / Carolina Kurebayashi Velloso. -- São José do Rio Preto, 2020

73 p. : il., tabs., fotos + 1 CD-ROM

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Vanildo Luiz Del Bianchi

Coorientador: Guilherme Lorencini Schuina

1. Lúpulo. 2. Carqueja. 3. Cerveja. 4. Controle microbiológico. I. Título.

Carolina Kurebayashi Velloso

AVALIAÇÃO DO PROCESSO CERVEJEIRO COM A SUBSTITUIÇÃO PARCIAL E TOTAL DO LÚPULO POR CARQUEJA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciências de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências 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.

Financiadora: CAPES

Comissão examinadora

Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi - Orientador

UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof^a. Dra. Marcia Luzia Rizzatto

IFSP - Câmpus Matão

Prof. Dr. Maurício Bonatto Machado de Castilhos

UEMG - Câmpus Frutal

São José do Rio Preto

28 de fevereiro de 2020

AGRADECIMENTOS

Gostaria de primeiramente agradecer ao universo, por ter me dado uma oportunidade que sei que muitas pessoas gostariam de prestigiar e viver.

As universidades públicas que ainda dão o apoio e a estrutura para que a pesquisa ainda esteja viva, e principalmente a UNESP, por ser esse ambiente para que eu pudesse concretizar meus objetivos pessoais e profissionais.

Um agradecimento especial ao professor Vanildo, que me mostrou um lado muito positivo da pós-graduação, e que pôde me dar a chance de acreditar de novo que eu era capaz.

Em especial um agradecimento a minha amiga e futura doutora Mariana Dâmaris Oliveira, que esteve do meu lado sempre, não me deixando desistir em nenhum momento, sem ela essa dissertação não seria possível.

A minha amiga Larissa Rocha que não mediu esforços para fazer qualquer coisa que fosse durante todo esse percurso, e a todo laboratório de bioprocessos, Igor, Jorge e Guilherme que sempre se mostraram muito solícitos durante toda a jornada.

Um obrigado especial a todos meus amigos da graduação que eu fiz durante esses anos, que me ajudaram direta e indiretamente em todo meu percurso, que me deram apoio e mesmo longe estão comigo me dando forças e me fazendo acreditar, obrigada Isabella Lara, Amanda Pietsch, Luciana Nishioka, Amanda Velone, Deborah Di Lernia, Marcela Damasceno, Marina Maia, Maria Júlia Lagiotto, Guilherme Corradini, eu amo vocês.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A cerveja é uma bebida fermentada basicamente feita de água, malte de cevada, lúpulo e adjuntos. O lúpulo é o componente que mais caracteriza a cerveja em seu sabor, aroma e por sua capacidade antioxidante. A dificuldade em se produzir o lúpulo no Brasil, devido às condições climáticas, faz com que o estudo por uma matéria-prima que o substitua seja considerado. Devido a sua característica amarga e seu poder antioxidante, a busca por plantas amargas já consumidas e produzidas no Brasil, são uma ótima opção para a substituição do lúpulo no processo cervejeiro. O objetivo central desse trabalho foi avaliar a atividade microbiológica, físico-química e sensorial das etapas de processamento da cerveja, com substituição total e parcial (0,1 e 0,01%) do lúpulo por carqueja (1g/L). As análises microbiológicas realizadas foram as de contagem de bactérias mesófilas, bactérias lácticas e leveduras, durante o processamento, dividido em: fervura, fermentação (1º e 7º dia), maturação (6º e 12º dia). Não houve contagem de bactérias mesófilas e de bactérias lácticas durante todas as etapas de processamento, já em relação as leveduras, pôde-se observar um grande crescimento nas fases iniciais de fermentação, decrescendo nas posteriores. As cervejas foram avaliadas físico-quimicamente (acidez, pH, °BRIX, turbidez, cor, extrato real, compostos fenólicos, teor alcoólico, grau real de fermentação e amargor), demonstrando um teor alcoólico aceitável para cervejas tipo Lager, uma boa atividade antioxidante, não variando significativamente entre si. As amostras seguiram um padrão semelhante em relação à análise sensorial, demonstrando que, na maioria dos aspectos de interesse para estudo, não houve variação significativa entre a aceitação dos avaliadores. Assim, pode-se concluir que não há a necessidade de adição de lúpulo em cervejas onde o amargor é proveniente da carqueja.

Palavras-chave: Lúpulo. Carqueja. Cerveja. Controle Microbiológico.

ABSTRACT

Beer is a fermented beverage basically made from water, barley malt, hops, and adjuncts. Hops are the most characteristic component of beer in terms of taste, aroma and antioxidant capacity. The difficulty in producing hops in Brazil, due to climatic conditions, means that the study for a replacement raw material is considered. Due to its bitter characteristic and its antioxidant power, the search for bitter plants already consumed and produced in Brazil are a great option for replacing hops in the brewing process. The central objective of this work was to evaluate the microbiological and physical-chemical activity of the beer processing stages, with total and partial (0.1 and 0.01%) replacement of hops by carqueja (1g/L). The microbiological analyses performed were those of counting of mesophilic microorganisms, lactic bacteria and yeasts, during processing, divided into: Boiling, fermentation (1st and 7th day), maturation (6th and 12th day). There was no count of mesophilic microorganisms and lactic acid bacteria during all stages of processing, already in relation to yeasts, a great growth could be observed in the early stages of fermentation, decreasing in later stages. The beers were evaluated physically and chemically (acidity, pH, °BRIX, turbidity, color, real extract, primitive extract, phenolic compounds, alcohol content, real degree of fermentation and bitterness), demonstrating an acceptable alcohol content for Lager-type beer, a good antioxidant activity, not varying significantly between them. The samples followed a similar pattern in relation to sensory analysis, demonstrating that, in most aspects of interest for study, there was no significant variation between the acceptance of the evaluators. It can be concluded that there is no need to add hops in beers where the bitterness comes from carqueja.

Keywords: Hop. Carqueja. Beer. Microbiological Control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura do grão de Cevada.....	18
Figura 2. Fluxograma do processo de maltagem.....	19
Figura 3. Fluxograma da etapa de umidificação da cevada.....	20
Figura 4. Processo de secagem do grão de cevada malteado.	21
Figura 5. Estrutura externa e interna da flor do lúpulo.	22
Figura 6. Fluxograma da produção de cerveja	25
Figura 7. Fluxograma bioquímico do processo de fermentação.....	31
Figura 8. (a) Carqueja in natura (b) Carqueja seca.....	34
Figura 9. Inoculação em meio DRBC para contagem de leveduras.....	39
Figura 10. Ficha de aceitação sensorial e intenção de compra.....	44
Figura 11. Dendograma resultante da análise de cluster para aparência.....	55
Figura 12. Mapa de preferência interno para aparência.	56
Figura 13. - Mapa de preferência interno de aroma	57
Figura 14. Dendograma resultante da análise de Cluster para aroma das cervejas.....	57
Figura 15. Mapa de preferência interno para amargor.	58
Figura 16. Mapa de preferência interno de sabor.....	59
Figura 17. Dendograma resultante da análise de cluster para corpo das cervejas.....	60
Figura 18. Mapa de preferência interno para o corpo da cerveja.	60
Figura 19. Mapa de preferência interno para a aceitação global das cervejas.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação da cerveja por extrato primitivo.	16
Tabela 2. Classificação da cerveja pelo teor alcóolico.....	16
Tabela 3. Características de diferentes maltes de base e maltes especiais.	21
Tabela 4. Principais constituintes encontrados em flores secas de lúpulo.	22
Tabela 5. Codificação das amostras do processamento da cerveja.	38
Tabela 6. Contagem de bactérias mesófilas e bactérias lácticas nas amostras das etapas de processamento da cerveja.....	46
Tabela 7. Resultados das análises físico-químicas do processamento da cerveja.	51
Tabela 8. Aceitação sensorial das cervejas.	54

LISTA DE GRÁFICOS E EQUAÇÕES

Gráfico 1 - Contagem de leveduras pelo método simplificado.	47
Gráfico 2 - Contagem de leveduras pelo método completo.	48
Gráfico 3. Contagem de leveduras na etapa de envase.	49
Gráfico 4. Intenção de compra de todas as amostras de cerveja.	62
Equação 1. Contagem do método reduzido para bolores e leveduras.	39
Equação 2. Determinação de acidez.....	42
Equação 3. Porcentagem de Extrato Real	43
Equação 4. Grau real de fermentação.....	43

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo Geral	14
2.2. Objetivos Específicos.....	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 Matérias-primas	16
3.1.1. Água.....	16
3.1.2. Cevada.....	17
3.1.3 Maltagem.....	19
3.1.4. Lúpulo	21
3.1.5. Levedura	23
3.2. Tipos de Cerveja.....	24
3.3. Processamento da cerveja.....	25
3.3.1. Moagem	26
3.3.2 Mosturação	26
3.3.3 Filtração	28
3.3.4 Fervura.....	29
3.3.5 Resfriamento.....	29
3.3.6 Fermentação	30
3.3.7. Maturação	32
3.3.8. Clarificação	33
3.3.9. Envase.....	33
3.4 Carqueja.....	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1. Preparo da Cerveja	36
4.2. Amostragem e codificação	37
4.3. Análises Microbiológicas	38
4.3.1 Contagem de Bactérias Mesófilas	38
4.3.2 Contagem de Leveduras	39
4.3.3 Contagem de Bactérias Lácticas	40
4.4. Análises Físico-químicas	40
4.4.1. pH	40
4.4.2. Cor	41
4.4.3. Amargor	41
4.4.4. °Brix	41

4.4.5. Compostos Fenólicos	41
4.4.6. Turbidez	42
4.4.7. Acidez	42
4.4.8. Extrato Real	42
4.4.9. Teor Alcoólico	43
4.4.10. Grau Real de Fermentação.....	43
4.5. Análise Sensorial	43
4.5.1 Teste de aceitação	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	45
5.1. Análises microbiológicas	45
5.1.1. Contagem de bactérias mesófilas e bactérias lácticas.	45
5.1.2. Contagem de Leveduras	47
5.2. Análises físico-químicas	50
5.3 Análise Sensorial	53
5.3.1. Aparência	55
5.3.2 Aroma	56
5.3.4 Sabor.....	58
5.3.5 Corpo	59
5.3.6 Aceitação Global.....	61
5.3.7. Intenção de compra.....	62
6. CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64
APENDICE A – Ficha de frequência de consumo de cerveja.	71
APENDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido	72

1. INTRODUÇÃO

A cerveja é genericamente definida como uma bebida fermentada carbonatada com o teor alcoólico entre 3 a 8 % (v/v), preparada a partir de malte de cevada, lúpulo, fermento e água de boa qualidade, permitindo-se ainda o uso de outras matérias-primas como arroz, milho e trigo à base de cereais.

O mercado cervejeiro é um ramo de grande crescimento mundial, nas qualidades tecnológicas e econômicas, trazendo benefícios empregatícios e melhoria na produção, desde a utilização de novas tecnologias a inovações na própria formulação do produto.

No Brasil, a cultura cervejeira vem aumentando, e as cervejas artesanais vem ganhando um espaço considerável, trazendo ao mercado produtos com mais qualidade, desde seus insumos, a própria forma de fabricação das mesmas, adaptando e formulando novas possibilidades de sabores e substituições de ingredientes, diferenciando-se das cervejas produzidas em larga escala, que tem sua formulação praticamente imutável.

O lúpulo além de conferir o amargor à cerveja, é um agente antioxidante, e tem um papel muito importante no processo de fermentação, conferindo a qualidade química e sensorial. Porém, é desfavorável seu cultivo no Brasil, já que o lúpulo é uma matéria-prima cultivada em regiões de clima frio.

A substituição do lúpulo por matérias-primas de fácil cultivo no clima tropical brasileiro seria uma ótima solução para a formulação no processamento da cerveja. Plantas com as mesmas características químicas e sensoriais, que possam desempenhar o papel do lúpulo na produção da cerveja artesanal, podem trazer o amargor, capacidade antioxidante e características físico-químicas para a produção de cervejas artesanais.

Visando a substituição do papel do lúpulo na produção de cervejas artesanais, com base em estudos anteriores, feitos com determinadas espécies de plantas amargas no processo de elaboração de cervejas, este trabalho buscou avaliar o potencial microbiológico, físico-químico e sensorial da carqueja, aplicando-a como substituinte total e parcial do lúpulo no processo cervejeiro.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Avaliar a produção de uma cerveja do tipo Lager, utilizando carqueja como substituinte parcial e total do lúpulo.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar as propriedades físico-químicas as cervejas produzidas utilizando carqueja (1g/L) como substituinte total e parcial do lúpulo;
- Avaliar a aceitação sensorial das cervejas produzidas em determinadas etapas de produção com a substituição parcial e total do lúpulo;
- Avaliar a atividade microbiológica das leveduras e possíveis contaminações.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O processo de produção da cerveja é uma tecnologia muito antiga, com relatos de sua existência por meados de 6000 a.C. na região do Egito e da Mesopotâmia. Seu desenvolvimento foi influenciado, principalmente com o emprego da agricultura, na área de grãos e cereais (MORADO, 2011).

O fácil acesso às suas matérias-primas e o custo das mesmas fizeram com que houvesse uma competição ampla com o consumo de vinho, assim, aprimorando cada vez mais o processamento e as tecnologias empregadas para a produção de cerveja, e aumentando consideravelmente o número de produtores de cerveja e a trazendo como uma alternativa financeira mais vantajosa (FLANDRIN, 2009).

Segundo Santos (2003), a cerveja chegou ao Brasil junto com os imigrantes europeus, na época de 1830, principalmente na região Sul do país. Seu crescimento foi progressivo até a Primeira Guerra Mundial, quando declinou sua produção por falta de insumos como o malte e lúpulo, fornecidos principalmente pela Alemanha e Áustria, assim, trazendo novas opções substituintes, como o milho e o trigo, diminuindo a qualidade do produto.

A cerveja é definida de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1994) como a bebida resultante da fermentação, mediante levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada em conjunto ou não com o extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo.

Basicamente sua produção se dá em seis etapas: mosturação, filtragem, fervura, fermentação, maturação e envase. Os cervejeiros chamam de brassagem o processo que vai da mosturação à fervura, passando pela filtração (REINOLD, 2015).

As cervejas são classificadas em 5 itens primordiais:

- Extrato primitivo – de acordo com a legislação brasileira, IN MAPA nº54 de 05/11/2001, “o extrato primitivo é a quantidade de substâncias (extrato) do mosto que

deu origem à cerveja e se expressa em porcentagem (%) em peso”, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Classificação da cerveja por extrato primitivo.

Tipo de cerveja	Valor mínimo (%m/m)	Valor máximo (%m/m)
Cerveja leve	Maior ou igual a 5,0	Menor que 10,5
Cerveja	Maior ou igual a 10,5	Menor que 12,0
Cerveja extra	Maior ou igual a 12,0	Menor que 14,0
Cerveja forte	Maior que 14,0	

Fonte: MAPA, 2001.

- Cor – Cerveja clara (menos de 20 unidade EBC), e Cerveja escura (20 ou mais unidade EBC).
- Teor alcóolico – representado pela Tabela 2.

Tabela 2 - Classificação da cerveja pelo teor alcóolico

Tipo de cerveja	Teor alcóolico (%)
Baixo teor alcóolico	< 2,0
Médio teor alcóolico	2,0 a 4,5
Alto teor alcóolico	4,5 a 7,0

Fonte: MAPA, 2001.

- Proporção de malte de cevada – Puro malte (100% malte de cevada), Cerveja (a partir de 50% de malte de cevada), e cerveja com o nome do vegetal predominante (>20% e <50% de malte de cevada).
- Fermentação – Alta fermentação, baixa fermentação e fermentação espontânea.

3.1 Matérias-primas

3.1.1. Água

A água é o principal ingrediente da cerveja, sendo representada por cerca de 90% em sua composição. A qualidade da água implica consideravelmente no produto final, já

que existem muitos tipos em composições minerais, fazendo com que os íons presentes causem um impacto considerável em suas características sensoriais e físico-químicas (COMRIE, 1967).

Apesar da possibilidade de controle de sua composição, por ser o ingrediente principal, pode-se não ser viável economicamente pelo tratamento ao processo. Assim, é um fator importante à escolha de um local ideal de produção de cerveja, delimitando não só tipos de equipamento para uso, mas também o tipo de cerveja que mais se adequa à composição da água escolhida (OLIVER, 2011).

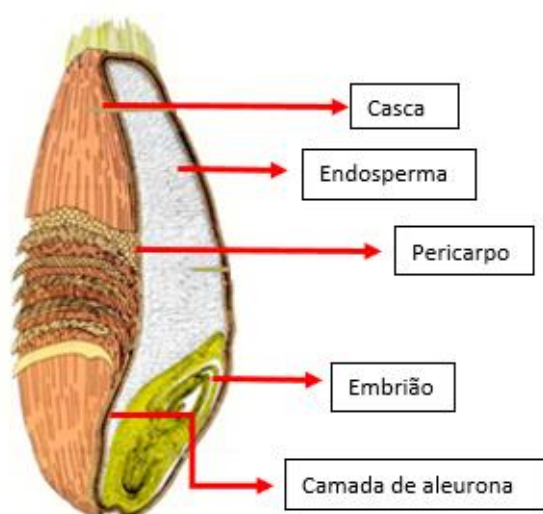
Muitas regiões, principalmente na Europa, são características de tipos específicos de cerveja, pela composição química da água utilizada no processamento cervejeiro.

A composição química das águas de muitas regiões da Europa popularizou certos tipos de cerveja na região, como a de Pilsen (República Tcheca) que, com sua água branda e baixas quantidades de cálcio, cloreto, magnésio, carbonato sódio e sulfato caracterizaram a cerveja Pilsner (cerveja clara).

3.1.2. Cevada

O grão de cevada é constituído basicamente por casca, pericarpo, endosperma, embrião e camada de aleurona (Figura 1).

Figura 1. Estrutura do grão de Cevada



Fonte: Flores (2015) com modificações.

A casca e o pericarpo são responsáveis pela proteção do grão a ações externas, principalmente quanto a sua respiração e ativação de enzimas. Sua composição principal é a celulose, primordialmente promovendo estruturação ao grão, minerais e vitaminas. São de extrema importância durante o processamento da cerveja, por formarem uma camada filtrante durante a filtração na etapa de mosturação (KUNZE, 2006).

A camada de aleurona é responsável pela transição de nutrientes entre o endosperma e o embrião, por enzimas hidrolíticas, que determinam o desenvolvimento do mesmo (LI; WANG; LIU, 2016), e auxilia no processo de produção e liberação das enzimas do grão (DANERI-CASTRO et al., 2016).

O endosperma é a estrutura que contém a reserva energética e proteica do grão, em forma de amido, sendo de extrema importância na etapa de fermentação, servindo de substrato às leveduras para a formação de álcool e dióxido de carbono da cerveja (VAN DEN BOOM et al., 2006). Seu teor de proteínas, principalmente as albuminas e globulinas, são responsáveis pela formação de espuma no produto final (BOGDAN; KORDIALIK-BOGACKA, 2017).

Sua estrutura mais interna, o embrião, é responsável pelo controle de todos os fatores externos que o grão gera, ele organiza o funcionamento e determina seu processo

de germinação e liberação de enzimas (ZSCHOERPER, 2009).

A cevada precisa passar pelo processo de maltagem para a liberação de enzimas necessárias para a produção de cerveja e, somente assim, poderá ser utilizada.

3.1.3 Maltagem

O processo de maltagem consiste da ativação dos grãos, a partir de sua germinação e secagem controlada, tendo como principal objetivo a obtenção de um produto com atividade enzimática, coloração e estabilidade adequadas.

Essa etapa de ativação, ilustrada na Figura 2, passa por quatro etapas essenciais: Operações preliminares ao grão, umidificação, germinação e secagem.

Figura 2. Fluxograma do processo de maltagem



Fonte: Elaborado pela autora.

A cevada após a colheita passa por uma série de operações preliminares, como: limpeza, classificação e secagem, antes de começar todo o processo de sua germinação. Seu teor de umidade assim que colhida está entre 11 a 13% e, caso a umidade esteja num teor mais elevado, é necessário passar pelo processo de secagem.

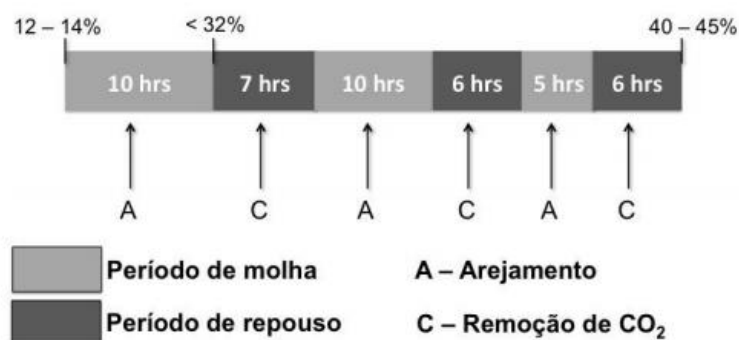
Todo processo preliminar consiste em sua limpeza, para retirar materiais estranhos, poeiras, terras, entre outras sujidades, a partir de equipamentos como mesas de gravidade, peneiras e separadores de disco. Após sua limpeza, é realizada a calibração dos grãos, por

meio de separação por tamanho, assim separando os grãos maiores, que tem mais probabilidade de germinação, dos menores que ainda precisam se desenvolver. Esse processo determina a qualidade e padronização da cevada para as demais etapas.

A etapa de umidificação é realizada com o objetivo de aumentar o teor de umidade entre 40 a 46% e ativar a atividade enzimática do cereal.

O método utilizado para a etapa de umedecimento é realizado por períodos de imersão do grão em água e períodos de repouso, para a água entrar em contato com o interior do cereal, ilustrado na Figura 3.

Figura 3. Fluxograma da etapa de umidificação da cevada.



Fonte: Adaptado de Porto, 2011.

Em sequência, é feito o processo de germinação do grão, realizado em caixas ou tanques de germinação, a uma temperatura de cerca de 14-20 °C, mantendo o grão com um teor de umidade de cerca de 45% por cerca de 5 dias (PORTO, 2011). É a etapa na qual a atividade enzimática aumenta principalmente pela ação das amilases, as β -glucanases e as proteases.

A etapa final do processo de maltagem é a secagem do grão já germinado, com o objetivo de cessar as atividades enzimáticas e microbiológicas, diminuindo seu teor de umidade de 46% para cerca de 5%, demonstrado na Figura 4.

Figura 4. Processo de secagem do grão de cevada malteado.



Fonte: Adaptado por Rosenthal (2019).

A secagem determina também o tipo de malte que se deseja obter, a partir de variações de temperatura. Os maltes “Pale” são secos em temperaturas entre 80-85 °C, e os maltes designados “Ale” são secos em temperaturas de 100 °C. Durante a secagem, há a ocorrência de reação de Maillard, determinando a coloração dos maltes e consequentemente do tipo de cerveja que se quer produzir, de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3. Características de diferentes maltes de base e maltes especiais.

Tipos de malte	Umidade (%)	Cor °EBC	Atividade enzimática	Temperatura final de secagem °C
Ale	4,0	5	Sim	100
Lager	4,5	2	Sim	80
Light Crystal	7,0	25 – 35	Não	75
Crystal	4,0	100 – 300	Não	75
Amber / Brown	2,0	100 – 140	Não	150
Chocolate	1,5	900- 1100	Não	220

Fonte: Adaptado de Palmer (2006).

3.1.4. Lúpulo

O lúpulo, denominado como *Humulus lupulus*, é a espécie utilizada para a fabricação de cerveja. É uma planta trepadeira, dióica, com espécies masculinas e femininas, pertencentes à família Cannabaceae (ALMAGUER et al., 2014). Sua produção de flores (cones) ricas em resinas, polifenóis e óleos essenciais trazem à cerveja o teor de amargor, propriedades antioxidantes e aroma, respectivamente (RETTBERG et. al, 2018; BAXTER; HUGHES, 2001), como mostra a Tabela 4.

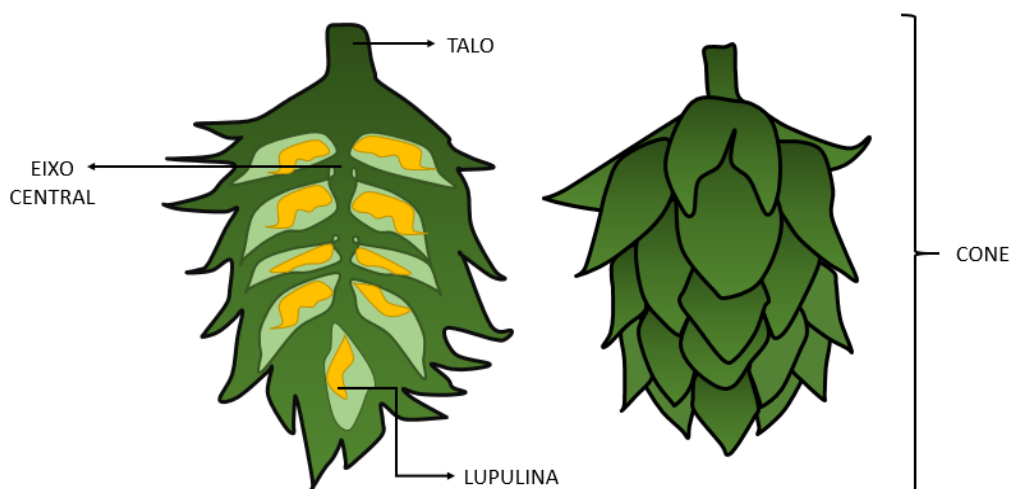
Tabela 4. Principais constituintes encontrados em flores secas de lúpulo.

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

Fonte: Almaguer et. al., (2014).

A parte que realmente importa na sua estrutura para a produção de cerveja é a flor não fertilizada das plantas fêmeas do lúpulo, como mostra a Figura 5.

Figura 5. Estrutura externa e interna da flor do lúpulo.



Fonte: Elaborado pela autora.

A indústria cervejeira consome cerca de 97% do lúpulo produzido mundialmente, por ser o ingrediente que confere muitos pontos qualitativos e característicos do produto, como a estabilidade coloidal da espuma, aroma, e atividade antimicrobiana, atuando como um agente de proteção a contaminações durante o processamento da cerveja (SCHONBERGER, 2012).

A maior parte de produção do lúpulo se concentra na Europa e América do Norte, mais especificamente na Alemanha e Estados Unidos, já que são países de condições climáticas favoráveis ao seu cultivo.

3.1.5. Levedura

As leveduras são fungos unicelulares taxonômicos, essenciais para a produção de bebidas alcoólicas. São mais comumente utilizadas as leveduras do gênero *Saccharomyces* para a produção de bebidas fermentadas e fermento-destilladas (BORTOLI et al., 2013).

A *S. cerevisiae* é uma levedura mesofílica, suas colônias são de cores que variam entre o branco e o creme, e suas estruturas podem ser convexas ou lisas (WALKER, 1998). Essa levedura é a mais utilizada no mundo para a produção de etanol em escala industrial e em uma série de outros processos biotecnológicos, como na confecção de pães e a produção de bebidas alcoólicas, como cerveja e vinho, por exemplo (BEHERA et al., 2010).

A fermentação conduzida pela ação da *S. cerevisiae* ocorre em anaerobiose e essa levedura tem a capacidade de codificar a enzima invertase, promovendo a hidrólise da sacarose em frutose e glicose. Desta forma, a glicose segue na via da fermentação alcoólica, passando por várias reações específicas até dar origem ao etanol. Essa levedura é tradicionalmente utilizada devido à sua alta produção e sua resistência ao etanol, o que mantém um baixo custo na destilação. Também é tolerante a baixos valores de pH e oxigênio e altas concentrações de açúcares (LIMA et al., 2001).

O desenvolvimento, a produção de massa celular e a produção de metabólitos de interesse dos microrganismos normalmente são influenciados por alguns fatores ambientais, físico-químicos e biológicos, que interferem no crescimento ou no rendimento da fermentação e na produção dos metabólitos, como o etanol. Em geral, a diminuição na eficiência fermentativa resulta em alterações no equilíbrio dinâmico, e

pode ocorrer devido a diversos fatores físicos, como, por exemplo, temperatura, pressão osmótica; fatores químicos como pH, oxigenação do meio, nutrientes minerais e orgânicos, inibidores; e fatores microbiológicos como a espécie, linhagem e concentração da levedura, contaminação microbiana, que afetam a eficiência da conversão de açúcar em etanol (OSTERGAARD; OLSSON; NIELSEN, 2000).

No ramo cervejeiro, há duas classificações gerais para as leveduras utilizadas: as leveduras de alta fermentação e de baixa fermentação, que divergem no tipo de produção desejada, modificando entre si características como melhor temperatura e tempo de finalização da cerveja (BAMFORTH, 2002).

3.2. Tipos de Cerveja

A cerveja vem diretamente de três famílias específicas de produção, as de baixa fermentação (Lager), alta fermentação (Ale), e as de fermentação espontânea.

As cervejas denominadas Lager tem um período de fermentação menor, e seguem as características de uma cerveja clara, podendo em alguns casos obter uma coloração escura, dependendo do malte utilizado em produção. Tem um baixo teor alcóolico e diferem nos seus subtipos no corpo da cerveja.

A cerveja Ale, de alta fermentação é conhecida pelo seu processamento em temperaturas mais altas, entre 15 e 26° dependendo da estirpe.

Além de fatores diferentes, como o tempo de fermentação e a temperatura utilizada em relação às cervejas Lagers, a levedura utilizada para a etapa de fermentação é um dos fatores que vai caracterizar também esse processamento.

A levedura de alta fermentação é hidrofóbica, e é conhecida como Levedura de fermentação de topo principalmente a espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Glicose, maltose, sacarose e rafinose podem ser fermentados por leveduras ale, enquanto melibiose e lactose não podem ser fermentados (LI; WANG; LIU, 2016).

As cervejas Ale tem um teor alcóolico maior, e diferem incomparavelmente com as

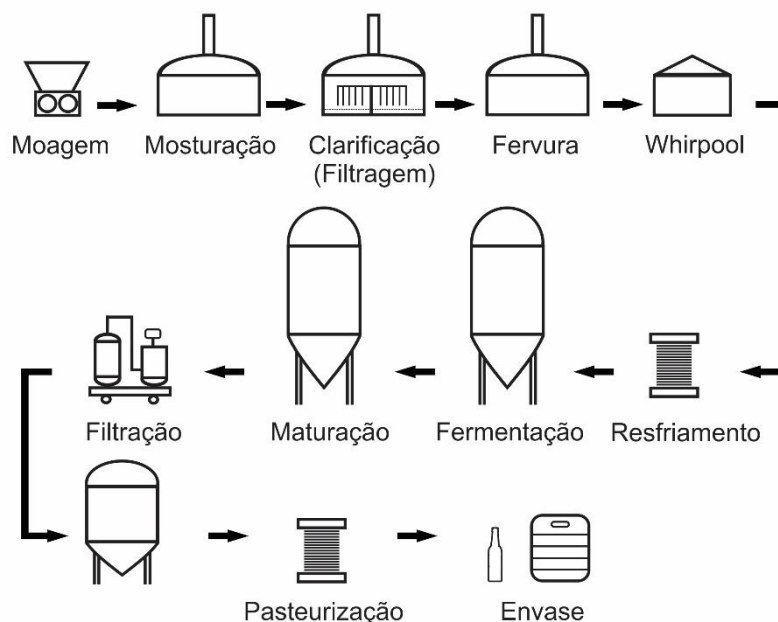
cervejas tipo Lager, no aroma, sabor e corpo. De um modo geral, a cerveja tem mais compostos ésteres e outros produtos secundários de sabor e aroma, trazendo o leve sabor frutado (PALMER, 2006).

A Ale é uma grande família com numerosos estilos, como Brown Ale, Pale Ale, India Pale ale, Porter, Stout, Altbier, Kolsch. As cervejas inglesas são famosas por usar este tipo de levedura em sua composição (LI; WANG; LIU, 2016).

3.3. Processamento da cerveja

Após a escolha do tipo de cerveja, das matérias-primas, dos tipos de levedura, do lúpulo e organização de equipamentos, o processamento da cerveja segue por 11 etapas: moagem, mosturação, filtração, fervura, *whirlpool* e resfriamento, fermentação, maturação, filtragem, pasteurização e envase (Figura 6).

Figura 6. Fluxograma da produção de cerveja



Fonte: Schuina, 2018.

3.3.1. Moagem

A moagem do cereal escolhido para processo é uma etapa para aumentar a superfície de contato do interior do grão, com seu conteúdo amiláceo, além de deixar mais propício durante o processamento a ativação das enzimas essenciais (ALTINO et al., 2015).

A qualidade da moagem e o controle da espessura e tamanho dos grãos que se quer obter são muito importantes, para facilitar as demais etapas do processamento. Uma moagem com a gramatura elevada pode não aproveitar o conteúdo de amido do grão, ou dificultar a atividade enzimática, e uma moagem excessiva pode ocasionar problemas durante a etapa de filtração, entupindo as vias de saída, ou ocasionando uma filtragem não eficiente, obstruindo os sólidos (IZYDORCZYK; DEXTER, 2016).

A moagem pode ser realizada na forma úmida ou seca, e os equipamentos de utilização para a maceração, são diversos, mas os mais comumente utilizados são: o moinho de rolo, podendo ser formado por um ou dois rolos (PRIEST; STEWART, 2006; PALMER, 2006), o moinho martelo, que tem a característica de deixar uma granulometria menor e mais fina (BRIGGS et al., 2004), e o moinho de disco, mais rústico, simples, e consequentemente mais barato.

3.3.2 Mosturação

A mosturação é a etapa em que ocorre as reações enzimáticas, pela interação do malte inserido em água, em uma proporção de 1:3 (uma parte de malte para três de água), submetido a temperaturas ideais para a ativação das enzimas, que irão deixar o meio nutritivo para atividade fermentativa das leveduras (PICCINI et. al., 2002).

Há duas formas para realizar este processo:

- Infusão - consiste no aquecimento conjunto da mistura de água e grãos e no repouso para a melhor atividade enzimática desta mistura na temperatura

desejada (IZYDORCZYK; DEXTER, 2016). Processo em que o cervejeiro irá definir em quantas etapas ele quer realizar: múltiplas vezes ou em apenas uma vez.

- Decocção – consiste em separar uma quantidade de mosto e submetê-lo à fervura, voltando a ser adicionada ao mosto principal, com o intuito de que alcance a temperatura desejada de mostura. O processo, como em infusão também, pode ser realizado diversas vezes.

O malte quando passa pelo processo de mosturação tem as suas principais enzimas ativadas, dentre elas as mais importantes: amilases (principalmente as α e β – amilases), proteases e glucanases. Cada enzima tem a sua temperatura ideal de atividade, assim, exercendo a sua função em diferentes partes da mosturação (ORTEGA-HERAS; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, 2003).

As glucanases estão presentes principalmente na casca do malte, e tem uma temperatura ótima de atividade à 45°C. São as enzimas responsáveis pela hidrólise de β -glucanos, que, por sua vez, são polímeros compostos de monômeros de D-glicose por ligação β , que durante a etapa de mosturação são importantes para determinar a viscosidade e turbidez do mosto, e seu rendimento através de enzimas amilolíticas (DURAND et al., 2009).

As proteases são enzimas relacionadas às proteínas e aminoácidos do mosto, assim determinando a qualidade de formação de espuma da cerveja de acordo com a hidrólise de proteínas e nutrientes para a levedura no processo de fermentação a partir da hidrólise de aminoácidos. Sua temperatura ótima de atividade é de 52°C, e sua atividade em excesso pode trazer malefícios na qualidade da cerveja quanto à estabilidade da espuma da cerveja. Por esse fato, as temperaturas na etapa de mosturação são elevadas, para sua inativação (JONES, 2005).

As amilases são as enzimas mais importantes durante todo o processo, pois são diretamente responsáveis pela formação de açúcares fermentescíveis para a formação de álcool no processo de fermentação (BRANDAM et al., 2003). Agindo diretamente no grânulo de amido, as amilases promovem a sacarificação, sendo necessário o processo de gelatinização, que se ocasiona quando o grânulo entra em contato com água aquecida, fazendo-o inchar até sua ruptura (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

As principais enzimas amilolíticas que exercem a função de sacarificação durante o processo são as α e β -amilases. As α -amilases são responsáveis pela hidrólise do polímero de amido pelas ligações α -1,4 do interior da molécula, e tem uma temperatura ótima de atividade em cerca de 68°C (XIAO; STORMS; TSANG, 2006).

As β amilases tem uma atividade ótima em temperaturas de 62°C, e tem a função de quebra das ligações α -1,4 das extremidades não redutoras das moléculas de amido (REDDY et al., 2005).

Ao término da ação enzimática desejada, o mosto deve ser aquecido a aproximadamente 75-78 °C para realizar a inativação das enzimas presentes.

3.3.3 Filtração

A filtração ocorre no final da mosturação, para separar o líquido em tina de filtragem, para a etapa posterior que é a fervura, sem a presença de sobrenadantes e ou partes sólidas. A parte sólida (casca do malte) auxilia nesse processo.

Estas tinas são recipientes contendo um fundo falso perfurado que permite a passagem do líquido, restando as cascas (KUNZE; WAINWRIGHT, 1996).

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 1 grau plato, na saída da tina de filtragem (EATON, 2006; PRIEST; STEWART, 2006).

3.3.4 Fervura

Após a filtração, o mosto segue para a fervura, precipitando as proteínas presentes originam o que é denominado como “*trub*” (PICCINI, et. al., 2002).

É a etapa que concentra o mosto pela evaporação da água, além de aumentar sua porcentagem de sólido solúveis (°BRIX) ideais para o processo de fermentação (MORADO, 2011). Também libera ao ambiente compostos voláteis que, se permanecem no mosto, poderão trazer sabores indesejáveis (BRIGGS et al., 2004).

A fervura, além de ser um procedimento responsável pelo controle de crescimento de micro-organismos do mosto, também traz características físico-químicas e sensoriais na cerveja, já que é a etapa de incorporação do lúpulo, que irá, com a isomerização de seus componentes, trazer aroma, amargor e atividades antioxidantes ao produto (INTELMANN et al., 2009).

O lúpulo pode ser acrescentado tanto no meio do processo de fervura como quase no final do mesmo. Pode ser, também, adicionado em parcelas durante o processamento. A razão é que os óleos essenciais responsáveis pelo desenvolvimento do aroma são voláteis, perdendo-se na fervura (PICCINI, et. al., 2002).

O processo de ebulição proporciona estabilidade biológica, bioquímica, coloidal e de sabor. As borbulhas de vapor que aparecem em uma ebulição intensa ajudam a formar um bom coágulo. Por isso, é importante que todo o mosto mantenha uma temperatura uniforme, sem a formação de sítios de menor temperatura (PICCINI, et. al., 2002).

3.3.5 Resfriamento

Após a separação do *trub*, o mosto é resfriado rapidamente até a temperatura de fermentação, processo realizado em trocadores de calor, sendo o mais comum o de placas (KUNZE, 2006).

O resfriamento deve ser realizado para a incorporação da levedura no mosto, já que temperaturas muito altas podem prejudicar os micro-organismos fermentadores. Deve ser feito da forma mais rápida possível para diminuir os riscos de contaminação pelo ambiente externo.

3.3.6 Fermentação

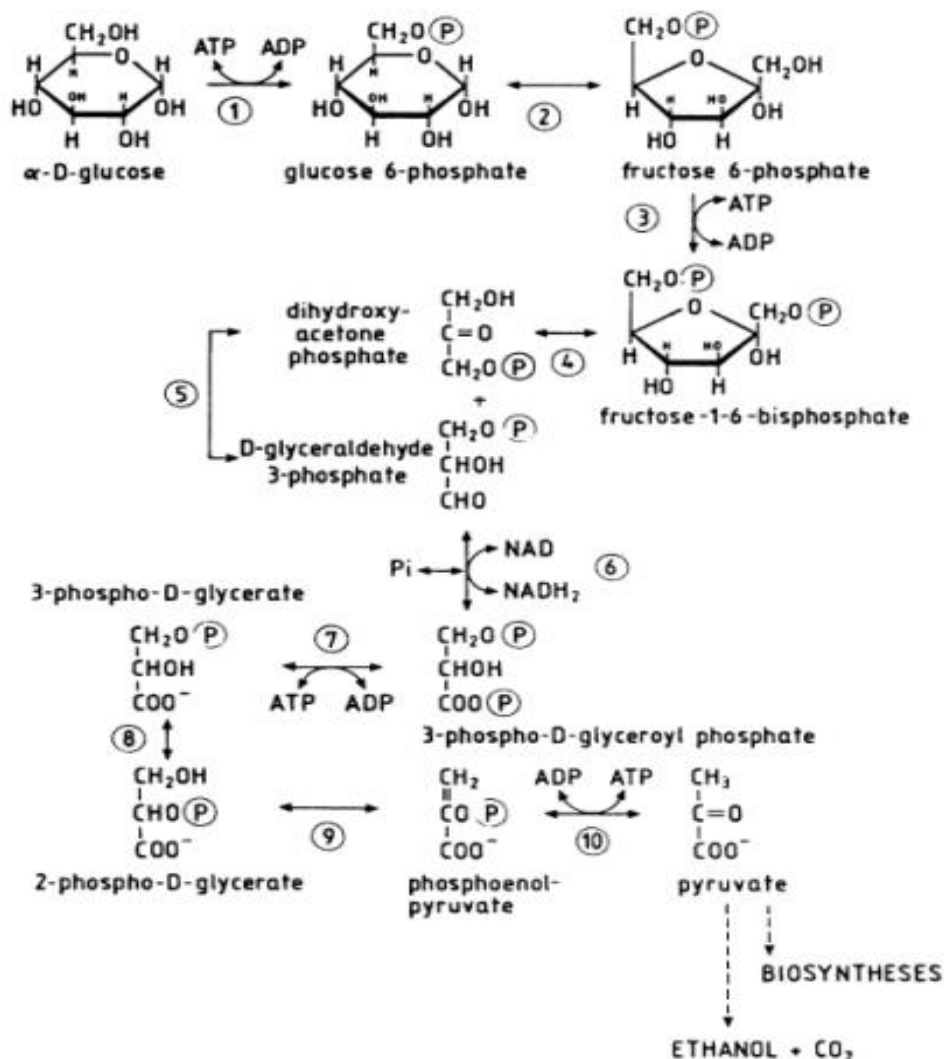
A fermentação alcoólica é o processo responsável pelo qual as leveduras utilizam os açúcares fermentescíveis do mosto como substrato para transformação em gás carbônico e álcool. É organizada em basicamente três fases:

- Fase de Adaptação (lag): Adaptação da levedura ao meio, ocorre nas primeiras horas de fermentação.
- Fase de Fermentação (log): é quando a levedura se multiplica e gera álcool, havendo uma grande produção de calor e gás carbônico. Esta fase depende da temperatura do mosto, do teor de açúcares do mosto.
- Fase estacionária: esta fase inicia-se com a diminuição do substrato do açúcar do meio ou pelo excesso de álcool produzido.
- Fase de declínio e morte.

A levedura, por ter a característica de um micro-organismo anaeróbio facultativo, no processo de adaptação ao meio, consome o oxigênio dissolvido no mosto, favorecendo o crescimento celular, com formação de CO₂ e água (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 (Figura 7) (PRIEST; STEWART, 2006).

Figura 7. Fluxograma bioquímico do processo de fermentação



Fonte: Brasil, 2014.

Durante a fermentação, além de álcool, há a formação de outros compostos como , álcoois, ésteres, aminas, fenóis, ácidos orgânicos, entre outros, por vias metabólicas secundárias, muitos deles responsáveis por toda caracterização de sabor da cerveja (VAN BENEDEN et al., 2008).

Os ésteres são compostos responsáveis pela caracterização de sabores favoráveis da cerveja, e são formados a partir da condensação de um álcool superior, ligado a uma acetil-coenzima A ativada (LIU, 2015).

Vários fatores podem influenciar a produção e a proporção de cada metabólito 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. O conhecimento do metabolismo da levedura é importante para se obter um produto com as características desejadas.

3.3.7. Maturação

A maturação é a etapa subsequente da fermentação, que consiste em armazenar a cerveja em baixas temperaturas (0 a 3 °C) por um período determinado pelo cervejeiro (5 a 15 dias), proporcionando a precipitação das leveduras e proteínas, auxiliando na clarificação do produto e proporcionando o melhoramento do aroma e sabor. Ao iniciar-se a maturação, a maior parte dos açúcares foi metabolizada a álcool etílico, gás carbônico, glicerol, ácido acético e álcoois superiores (OLIVER, 2011).

A contrapressão feita pelo tanque de maturação ocasiona a carbonatação da cerveja, através do gás carbônico produzido na fermentação do extrato restante da etapa anterior, saturando a cerveja e ajudando na formação de espuma, corpo e caráter (PICCINI et al., 2002).

A temperatura baixa e a pressão controlada auxilia na clarificação da cerveja durante a maturação, pois faz com que as substâncias que ocasionam a turvação da cerveja sedimentem por gravidade (YAMAUCHI et al., 1995).

Na maturação do sabor ocorrem três reações químicas que tem grande influência sobre o sabor do produto final: a redução na concentração de ácido sulfídrico, de acetaldeído e de diacetil. Todos estes compostos são produtos da fermentação pela levedura. Podem ser minimizados mediante a menor temperatura de fermentação, seleção da levedura e composição do mosto. Álcoois superiores e ácidos graxos se formam durante a fermentação e não se modificam significativamente durante a maturação. O álcool amílico pode aumentar durante o repouso prolongado. Os ésteres aumentam na

mesma proporção que se produz etanol. Durante o período de maturação são formados ésteres originando o aroma e sabor que caracterizam a cerveja "madura". Entre os ésteres predominam o acetato de etila, em média de 21,4 mg/L e o acetato de amila, com 2,6 mg/L (PICCINI et al., 2002).

3.3.8. Clarificação

A clarificação consiste na melhoria da turbidez da cerveja, ou seja, pode ou não ser feita no processamento, de acordo com o tipo de cerveja que se quer obter. As técnicas para esse procedimento são variadas, e podem ser utilizadas mais de uma, caso queira uma resposta mais aparente (GASSARA et al., 2015).

A técnica mais simples utilizada é a de sedimentação por gravidade, deixando em repouso a cerveja sob baixas temperaturas, retirando a parte decantada devido à floculação formada (FILLAUDEAU et al., 2007).

O uso de agentes clarificantes é bem comum na produção de cervejas comerciais, pois acelera o processo de floculação reagindo diretamente na proteína presente 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).

E processos que podem ser utilizados em conjunto para melhor resultado são os de filtração e centrifugação, retirando o sobrenadante dos compostos precipitados (ALICIEO et al., 2008).

3.3.9. Envase

O envase é a etapa que finaliza o processo, e tem uma grande importância quanto ao material utilizado em processamento. A cerveja pode ser envazada e mantida em diversos materiais, como o alumínio (latas), vidros de cores diferentes, barris, e até mesmo plásticos, o que irá divergir na qualidade e sabor do produto final (FETTERS, 2006).

A luz é um fator que implica consideravelmente na qualidade da cerveja já envasada, pois ela pode gerar reações de oxidação com o produto sendo o mais aconselhável materiais de coloração mais escura como âmbar, para manter a qualidade e integridade da cerveja (KOLPIN; SHELLHAMMER, 2009).

3.4 Carqueja

A Carqueja é uma planta nativa das regiões Sul e Sudeste do Brasil, podendo ser encontrada também na Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai (BONA et al., 2012).

Carqueja é uma planta dioica, arbustiva, que apresenta ramos lenhosos cilíndricos, contendo três asas, afilinos ou com folhas sésseis raras, podendo alcançar aproximadamente 1 m de comprimento. Sua forma de consumo, em maior parte, se dá como planta seca e triturada (KAUT et al., 2018).

Figura 8. (a) Carqueja in natura (b) Carqueja seca.



A carqueja é mais consumida em sua forma seca, muito utilizada para a confecção de chás e extratos para tratamentos medicinais, por conter uma atividade antimicrobiana, antioxidante, analgésica entre outras funções muito utilizadas no ramo da saúde. Isso devido ao seu índice de flavonoides, terpenos e outros compostos presentes na planta (BELTRAME et al., 2009).

Vários flavonoides foram isolados em diferentes espécies de carqueja e, dentre eles o canferol, o eriodictol, a quercitina e a eropiacina, variando de acordo com a produção e espécie (SILVA et al., 2006).

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, diterpenos, ácidos cafeicos, lactonas diterpênicas e estigmasterol (TESKE; TRENTINI, 1997)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Preparo da Cerveja

Para este estudo, foram elaboradas cervejas do estilo American lager (STRONG; ENGLAND, 2015). O malte foi moído e, em seguida, introduzido na panela de mosturação juntamente com a água, na proporção de 1:3, em que, para cada parte de malte, foram adicionadas 3 partes de água.

A mosturação foi realizada pelo processo de infusão múltipla (62°C por 20 min, 70°C por 40 min e 78°C por 5 min). Finalizada a mosturação, o mosto passou pelo processo de filtração, usando a casca do malte como camada filtrante.

Ao finalizar a filtração do malte, foi adicionada água à mesma temperatura do sistema sobre a camada filtrante, com intuito de retirar o açúcar remanescente. O caldo resultante foi adicionado ao filtrado e levado à fervura, na qual foi adicionada a carqueja 1g/L. A partir dessa concentração de carqueja, foram inseridas as substituições parciais, nas porcentagens de 0,1 e 0,01 % de lúpulo, baseado no estudo já feito por Schuina, 2018.

Em todas as formulações, a carqueja foi adicionada no início do processo de fervura, o qual dura 60 minutos. Foram separadas em três recipientes diferentes, uma quantidade para a amostra controle (apenas carqueja) de cada etapa do processamento (fervura, fermentação e maturação), um para a formulação das amostras com lúpulo a 0,1 e 0,01% de lúpulo na fermentação, e outro recipiente para as amostras que a porcentagem de lúpulo escolhida, posteriormente, fosse incorporada nas demais etapas.

Foi realizada a agitação circular do mosto, para promover a precipitação do “trub” e feito o resfriamento rápido do mosto até temperatura próxima a de inoculação da levedura. Ao final desse processo, foi retirado o “trub” e o mosto inoculado foi levado à fermentação utilizando a levedura saflager S-23.

A fermentação ocorreu por sete dias, individualmente em garrafas âmbar, com capacidade para 1 litro cada e temperatura de 12 °C. Ao final da fermentação, foi realizado o processo de maturação por 15 dias, sendo os primeiros três dias a 15 °C e os demais a 0 °C.

Ao término da maturação, as cervejas foram colocadas em garrafas de vidro, juntamente com uma solução de açúcar de 6 g/L e mantidas por 7 dias a 20°C, para que ocorresse a carbonatação do produto. Ao final deste processo, foram realizadas as análises físico-químicas da cerveja.

Ao total, 15 amostras diferentes de cerveja foram analisadas, já que um dos objetivos centrais foi avaliar durante o processamento a atividade microbiana da cerveja à base de carqueja. Sendo assim durante o processamento as etapas analisadas foram: fervura, fermentação (1º e 6º dia), maturação (1º e 12º dia) e antes do envase, gerando duas amostras para cada etapa de processamento (0,1% e 0,01% de lúpulo) e o controle sem lúpulo em cada uma delas, para servir de padrão de comparação.

4.2. Amostragem e codificação

As amostras seguiram as codificações pré-determinadas (Tabela 5), para melhor auxiliar nas análises de cada etapa de processamento.

Foram feitas cinco amostras controle (sem adição de lúpulo), com o intuito de manter a integridade na hora de analisar cada etapa de produção, juntamente com as amostras de concentração parcial de lúpulo (0,1 e 0,01 %), totalizando então em 15 amostras na pesquisa.

Tabela 5. Codificação das amostras do processamento da cerveja.

Etapa de produção	Concentração de lúpulo (%)		
	0	0,1	0,01
Fervura	C1	F.1	F.2
Fermentação 1º dia	C2	FE.1	FE.2
Fermentação 6º dia	C3	FE.3	FE.4
Maturação 1º dia	C4	M.1	M.2
Maturação 14º dia	C5	M.3	M.4

4.3. Análises Microbiológicas

Foram feitos pré-testes de concentração e diluição das amostras, para a melhor contagem ser realizada durante todo processo.

As análises foram realizadas em duplicata, no dia de incorporar o lúpulo nas suas concentrações de 0,1 e 0,01 % nas amostras com as identificações já estabelecidas (Tabela 5), e 24h depois, para analisar a atividade do mesmo sobre a cerveja.

Os meios PCA e MRS, suplementados com a solução de miconazol 20 mg/g, serão submetidos a controle biológico positivo, para viabilizar o potencial de crescimento de bactérias. Cepas de *E.coli* ATCC 25922 testadas em meio PCA, e as de *Lactobacillus* ATCC 4356 em meio MRS.

4.3.1 Contagem de Bactérias Mesófilas

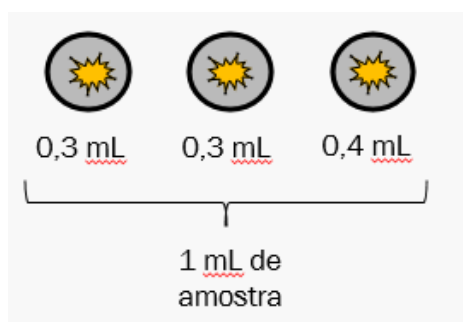
As amostras foram analisadas para a determinação de mesófilos utilizando 1 mL de amostra em sua diluição decimal apropriada em duplicatas, por profundidade em meio PCA (ISO 4833-1, 2008), com uma modificação na composição do meio utilizado, sendo

adicionado miconazol (20 mg/g) para o controle de bolores e leveduras, sendo mantidas por 48h em estufas de temperaturas à 37 °C.

4.3.2 Contagem de Leveduras

A contagem de leveduras das amostras foi determinada de acordo com Ryu e Hall (2015), utilizando o meio DRBC (Dichloran Rose Bengal Chlortetracycline), 1 mL da amostra dividido em três placas, com a proporção 0,3 mL, 0,3mL e 0,4 mL (Figura 9) da diluição decimal apropriada da amostra, na superfície das placas com o meio, sendo espalhada com a alça de Drigalski. As placas foram incubadas a temperatura de 25 °C em estufa, por 5 dias.

Figura 9. Inoculação em meio DRBC para contagem de leveduras.



Fonte: Elaborada pela autora.

4.3.2.1 Pré testes para a contagem de leveduras

Pré-testes com a metodologia simplificada do método, para avaliar a diluição ideal para a contagem de leveduras, seguindo a quantidade de 0,3 mL de amostra inoculada em superfície do meio DRBC, na concentração ideal de contagem.

A contagem pelo método reduzido se dá pela equação 1.

Equação 1. Contagem do método reduzido para bolores e leveduras.

$$\text{Contagem reduzido de Levedura} \frac{\text{UFC}}{\text{mL}} = \frac{N^{\circ}}{Vi \times 1,1 \times C}$$

Em que N° representa o número de colônias contabilizadas, dividido pela quantidade em mL (V_i) de amostra utilizada, multiplicado pelo fator de correção e a diluição.

4.3.3 Contagem de Bactérias Lácticas

Para as análises de bactérias lácticas durante o processamento, foi utilizado 1 mL de amostra em sua diluição decimal apropriada em duplicatas, por profundidade em meio MRS, utilizando uma sobre camada para gerar anaerobiose na etapa de incubação, por 48h na temperatura de 35 a 36 °C (NJONGMETA et al., 2015).

Para o teste de confirmação de colônias, seguiu-se a metodologia de repique da colônia do meio MRS para o PCA, por estriamento, incubada a 35°C por 24h. Após o crescimento em placa realiza-se o teste de catalase, transferindo as colônias formadas em meio PCA com uma alça de platina, para uma lâmina contendo uma gota de hidróxido de hidrogênio 35% (NJONGMETA et al., 2015).

4.4. Análises Físico-químicas

As amostras foram previamente descarbonatadas sob agitação, para a realização das análises físico-químicas determinadas em estudo.

Foram analisadas em duplicata de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005) e a Convenção Européia de Cerveja (EBC, 2010).

4.4.1. pH

O pH foi determinado pelo método eletrométrico utilizando um pHmetro de bancada, no volume de 50 ml de amostra à 25° C (IAL, 2005).

4.4.2. Cor

Para a determinação de cor da cerveja, foi escolhida a metodologia da *European Brewery Convention* 9.6 (EBC, 2010).

Resume-se em filtrar cerca de 10 mL de amostra e fazer a leitura em espectrofotômetro num comprimento de onda de 430 nm.

4.4.3. Amargor

Com a metodologia estabelecida pela EBC 9.8, foi determinado o amargor das amostras (EBC, 2010).

Foram separados em duplicata 10 ml de cada amostra, adicionados com 20 ml de isoctano, 0,5 de ácido clorídrico, seguindo de agitação por 20 minutos, para a liberação de iso- α -ácidos presentes na cerveja. As amostras foram centrifugadas a 10000 G, por 20 minutos a 5°C, e com o sobrenadante feito a leitura à 275 nm em espectrofotômetro.

4.4.4. °Brix

O grau °Brix inicial e final de cada amostra foi determinado via refratômetro manual.

4.4.5. Compostos Fenólicos

A concentração de fenóis totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu modificado por Singleton e Rossi (1965).

Feitas em duplicata, 30 μ L de cada amostra, foram adicionados 2370 μ L de água destilada e 150 μ L do reagente Folin-Ciocalteu, em ambiente escuro. Após 2 minutos de repouso, adicionou-se 450 μ L de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 15%, sendo submetidas a aceleração da reação em banho-maria 40°C por 20 minutos.

Após a reação, foi feita a leitura em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22) com a absorvância em 765 nm.

Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por interpolação da absorvância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico ($y=0,001x + 0,0286$; $R^2=0,9960$) e expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por litro (mg EAG.L⁻¹).

4.4.6. Turbidez

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

4.4.7. Acidez

A acidez total foi determinada pela técnica de titulação com solução de NaOH 0,1N utilizando fenolftaleína como indicador (IAL, 2005).

A partir da equação, a acidez total foi obtida, expressa em gramas de ácido láctico em 100 mL.

Equação 2. Determinação de acidez

$$\text{cidez total em g de ác. láctico em 100mL} = \left(\frac{n \times M \times f \times MM}{10 \times V} \right)$$

Em que n corresponde ao volume gasto na titulação da solução de NaOH, em mL, M a molaridade da solução de NaOH, f ao fator de correção da solução de NaOH, MM a massa molar do ác. láctico (60g) e V ao volume da amostra em mL (Equação 2).

4.4.8. Extrato Real

O extrato real foi realizado pela metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005), sendo determinado por pesagem do resíduo seco pela evaporação da amostra.

Os cadinhos foram submetidos à estufa 105 °C por 1 hora. Após resfriados, os mesmos foram pesados em balança analítica.

Em cada cadinho foram pesados 5g de amostra, feitas em duplicata, seguido de mais

2 horas de estufa à 105° C.

Os resultados foram obtidos a partir da Equação 3.

Equação 3. Porcentagem de Extrato Real

$$\text{Extrato real \%} \frac{m}{v} = \left(\frac{100 \times P}{V} \right)$$

Onde P corresponde a massa do resíduo, em gramas e V ao volume da amostra, em mL.

4.4.9. Teor Alcoólico

O teor alcoólico foi determinado de acordo com metodologia EBC 9.2.3 (EBC, 2010), que é expresso através da leitura das amostras de cerveja submetida ao processo de destilação por % (m/m).

4.4.10. Grau Real de Fermentação

O grau real de fermentação (EBC, 2010) é calculado com base no percentual de álcool e extrato primitivo conforme a Equação 4, onde A corresponde ao álcool (m/m) e E_R a % de extrato real.

Equação 4. Grau real de fermentação

$$\text{Grau Real de Fermentação} = \left(\frac{2,0665 \times A}{2,0665 \times A + E_R} \right) \times 100$$

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, aprovada com o Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) 28154820.9.0000.5466.

4.5.1 Teste de aceitação

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 aparência, aroma, amargor, sabor, corpo e aceitação global (Figura 10). Juntamente a este foram avaliadas a intensidade de amargor, a intensidade de amargor ideal e a intenção de compra.

Figura 10. Ficha de aceitação sensorial e intenção de compra.

Nome: _____ Idade: _____ Data: ____/____/____

1) Você está recebendo uma amostra de cerveja artesanal. Por favor, prove-a e avalie cada item segundo 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 _____

Aparência	
Aroma	
Amargor	
Sabor	
Corpo*	
Aceitação global	

* *Corpo: Sensação de preenchimento na boca*

Prove novamente a amostra e avalie, utilizando as escalas abaixo, o quão próximo do ideal está o amargor:

() extremamente mais amargo que o ideal
() muito mais amargo que o ideal
() moderadamente mais amargo que o ideal
() ligeiramente mais amargo que o ideal
() amargor ideal
() ligeiramente menos amargo que o ideal
() moderadamente menos amargo que o ideal
() muito menos amargo que o ideal
() extremamente menos amargo que o ideal

3) Assinale, para esta amostra, qual seria sua intenção de compra:

() Eu certamente compraria esta amostra.
() Eu provavelmente compraria esta amostra.
() Tenho dúvidas se compraria ou não esta amostra.
() Eu provavelmente não compraria esta amostra.
() Eu certamente não compraria esta amostra.

Comentários: _____

Participaram do teste 100 avaliadores não treinados, maiores de 18 anos, que receberam cinco amostras (30 mL), de forma monádica, codificadas com três dígitos e em ordem casual, e um copo com água, à temperatura ambiente, para tomar entre uma amostra e outra.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Análises microbiológicas

Os meios PCA e MRS, que foram suplementados com a solução de miconazol 20 mg/g, foram submetidos a controle biológico positivo, para viabilizar o potencial de crescimento de bactérias. Cepas de *E.coli* foram testadas em meio PCA, e as de *Lactobacillus* em meio MRS, demonstrando, após a incubação, que houve o crescimento de bactérias no meio, assim, viabilizando o desenvolvimento de possíveis bactérias durante o processamento com as amostras em estudo, e a inibição do crescimento de bolores e leveduras.

5.1.1. Contagem de bactérias mesófilas e bactérias lácticas.

Após pré-testes a melhor concentração a ser utilizada para as análises microbiológicas foi a amostra sem diluição (10^0).

Não houve crescimento de bactérias em nenhuma etapa do processamento, como mostra a Tabela 6 a seguir:

Tabela 6. Contagem de bactérias mesófilas e bactérias lácticas nas amostras das etapas de processamento da cerveja.

Etapas de processamento	Amostras	1ª Coleta (UFC/mL)	24h depois (UFC/mL)
Fervura	C1	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	F.1	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	F.2	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
Fermentação 4º dia	C2	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	FE.1	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	FE.2	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
Fermentação 7º dia	C3	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	FE.3	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	FE.4	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
Maturação 6º dia	C4	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	M.1	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	M.2	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
Maturação 12º dia	C5	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	M.3	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
	M.4	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$
Envase	Todas	$<1,0 \times 10^0$	$<1,0 \times 10^0$

Mesmo o meio de cultura sendo suplementado com antifúngicos, para apenas a leitura de bactérias capazes de acidificar e produzir compostos indesejáveis à cerveja, algumas placas principalmente na etapa de fermentação apresentaram crescimento de leveduras. A contagem pelo meio PCA não foi considerada, já que o controle para leveduras foi feito com outra metodologia mais precisa para a determinação das mesmas (6.1.2).

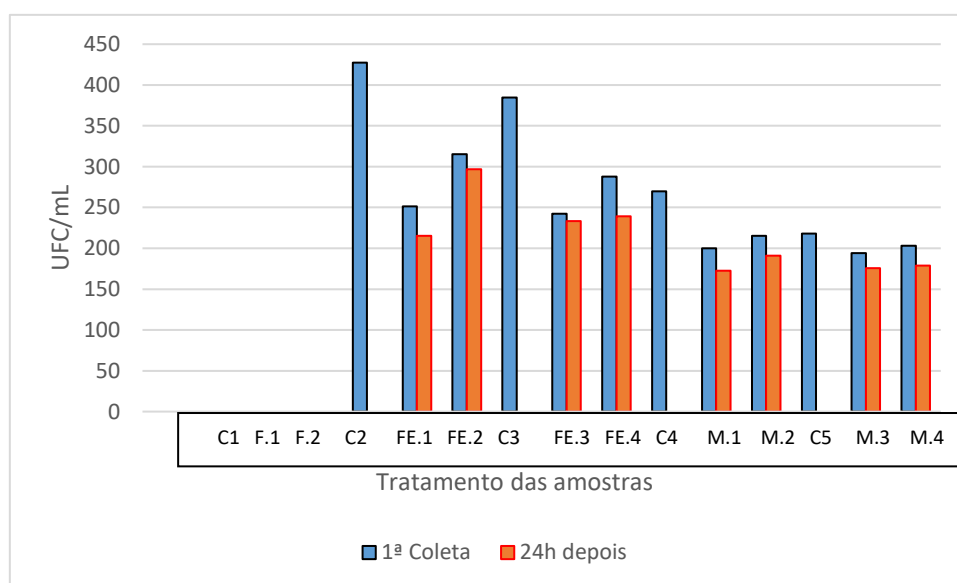
As amostras de tratamento nas etapas de maturação demonstraram um crescimento microbiológico no meio MRS, mas, após o repique das colônias encontradas e feito o teste de catalase, como descrito no item (4.3.3), confirmou-se que não havia presença de bactérias lácticas.

Pode-se observar, com esse resultado, que a atividade antimicrobiana não difere entre as amostras, ou seja, desde a menor porcentagem de lúpulo utilizado à ausência do mesmo, a qualidade microbiológica no processamento foi mantida. Isso pode decorrer devido as características antioxidantes que a carqueja possui de acordo com Adenuga, Olaleye e Adepoju (2010).

5.1.2. Contagem de Leveduras

Os resultados do pré-teste, contabilizado pelo método simplificado supracitado, estão demonstrados no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Contagem de leveduras pelo método simplificado.



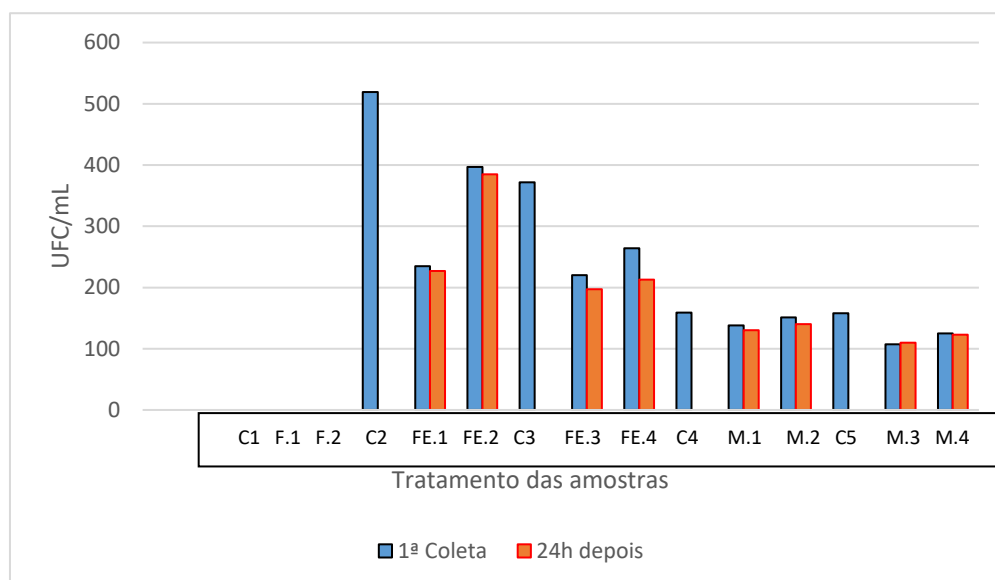
C = Controle; F.1= 0,1% Fervura; F.2 = 0,01% Fervura; FE.1 = 0,1% Fermentação (1º dia); FE.2 = 0,01% Fermentação (1º dia); FE.3 = 0,1% Fermentação (6º dia); FE.4 = 0,01% Fermentação (6º dia); M.1 = 0,1% Maturação (1º dia); M.2 = 0,01% Maturação (1º dia); M.3 = 0,1% Maturação (14º dia); M.4 = 0,01% Maturação (14º dia).

As leveduras seguiram um padrão de crescimento alto após o processo de fermentação, principalmente nas amostras controle. Como mostra o Gráfico 1, as contagens mais altas se dão nas amostras Controle seguindo as de concentração 0,01% e 0,1% de lúpulo.

As amostras demonstraram que, após as 24h de incorporação do lúpulo em todas as etapas de processamento, a contagem de leveduras diminuiu. De acordo com Leite (2011), o lúpulo tem características que inibem o crescimento microbiológico, e a levedura pode sofrer também os impactos dessa atividade, assim, explicando o fato de após 24h analisadas, as amostras sofrerem uma queda, mesmo que pequena, no crescimento de leveduras durante o processo. Este fato também se observa pelas amostras de menor concentração de lúpulo (0,01%), que tiveram uma contagem maior de leveduras antes e depois das 24h de análise, em comparação com as amostras de concentração 0,1%.

Os resultados para o método sem a redução de volume de contagem de leveduras seguiram os mesmos padrões do método simplificado, apenas com uma contagem mais baixa, já que sua incerteza do método simplificado é maior por apenas utilizar 0,3 mL de amostra, e o fator de correção aproxima o valor real, assim confirmando que o método reduzido de contagem de leveduras pode ser considerado para o uso em pesquisa, auxiliando com a diminuição de materiais utilizados no experimento (Gráfico 2)

Gráfico 2 - Contagem de leveduras pelo método completo.



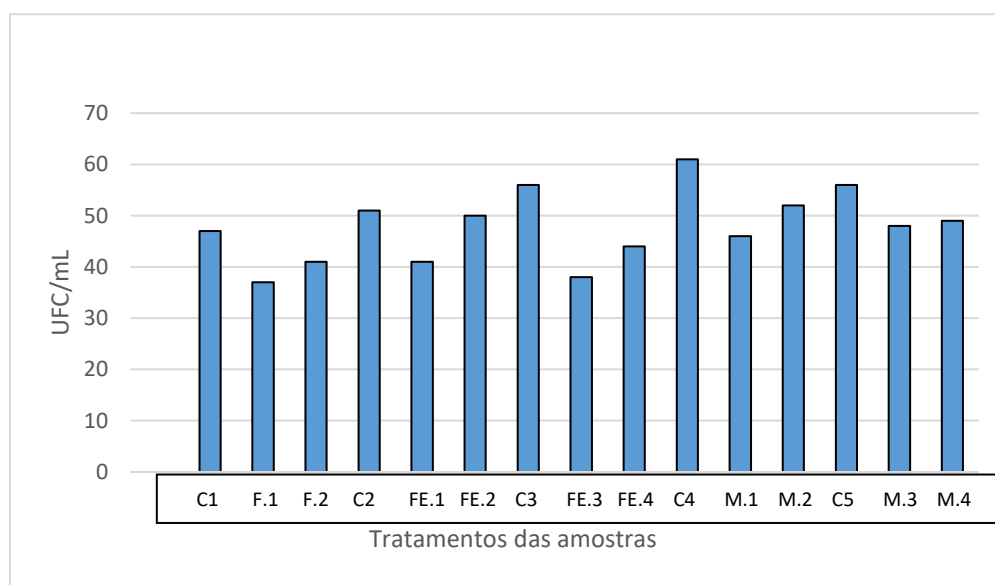
C = Controle; F.1= 0,1% Fervura; F.2 = 0,01% Fervura; FE.1 = 0,1% Fermentação (1º dia); FE.2 = 0,01% Fermentação (1º dia); FE.3 = 0,1% Fermentação (6º dia); FE.4 = 0,01% Fermentação (6º dia); M.1 = 0,1% Maturação (1º dia); M.2 = 0,01% Maturação (1º dia); M.3 = 0,1% Maturação (14º dia); M.4 = 0,01% Maturação (14º dia).

Na etapa de envase, todas as amostras foram analisadas após o término da carbonatação da cerveja, e demonstraram uma contagem baixa comparada as outras etapas de processamento, prevalecendo as contagens mais altas para as amostras controle (sem lúpulo), seguidas das amostras com porcentagem de 0,01% de lúpulo e as amostras com 0,1% de lúpulo em sua formulação.

Mais uma vez verifica-se a probabilidade de que a atividade antimicrobiana do lúpulo frente a levedura pode influenciar na sua contagem.

A diminuição da formação de leveduras na etapa de envase mostra que a atividade do micro-organismo já segue em fase estacionária, declinando em seu crescimento (Gráfico 3).

Gráfico 3. Contagem de leveduras na etapa de envase.



C = Controle; F.1= 0,1% Fervura; F.2 = 0,01% Fervura; FE.1 = 0,1% Fermentação (1º dia); FE.2 = 0,01% Fermentação (1º dia); FE.3 = 0,1% Fermentação (6º dia); FE.4 = 0,01% Fermentação (6º dia); M.1 = 0,1% Maturação (1º dia); M.2 = 0,01% Maturação (1º dia); M.3 = 0,1% Maturação (14º dia); M.4 = 0,01% Maturação (14º dia).

5.2. Análises físico-químicas

Como mostra a Tabela 7, houve pouca variação entre as amostras em relação à acidez e o pH, e o desvio padrão determinado foi baixo.

Pode-se observar que as amostras mais ácidas, de acordo com a medição de pH, foram as de tratamento na maturação do seu 12º dia (M.3 e M.4), e foram as amostras que demonstraram diferença significativa entre as demais.

O °Brix do processamento se iniciou em 12 e, ao final do processo, após o engarrafamento, terminou entre 5 e 7.

A tendência dos sólidos solúveis é a diminuição, por exatamente serem consumidos na etapa de fermentação pelas leveduras, deixando um pH ideal e com pouca variação entre as amostras, sendo que apenas as amostras de tratamentos na fermentação ao 4º dia destoaram das demais.

Tabela 7. Resultados das análises físico-químicas do processamento da cerveja.

Tratamentos	Análises físico-químicas									
	Acidez	pH	Brix inicial	Brix final	TA	T	Cor	CF	Grau real de fermentação	A
C	0,42 ± 0,01 ^{ab}	4,74 ± 0,04 ^{cd}	12	5,78 ± 0,04 ^c	4,38 ± 0,04 ^b	92,25 ± 1,77 ^e	18,35 ± 0,21 ^f	409,40 ± 9,90 ^b	72,32 ± 0,01 ^a	1,45 ± 0,00 ^{abc}
F.1	0,45 ± 0,00 ^a	4,74 ± 0,00 ^{cd}	12	6,05 ± 0,01 ^b	3,62 ± 0,10 ^c	88,55 ± 6,72 ^e	25,10 ± 0,21 ^a	457,90 ± 19,09 ^b	64,84 ± 0,25 ^{de}	1,70 ± 0,21 ^{abc}
F.2	0,37 ± 0,03 ^{bc}	4,79 ± 0,01 ^{abc}	12	6,05 ± 0,01 ^b	3,73 ± 0,02 ^c	104,50 ± 0,70 ^d	23,28 ± 0,25 ^b	478,40 ± 12,02 ^b	65,82 ± 0,12 ^{cd}	1,63 ± 0,32 ^{abc}
FE.1	0,34 ± 0,02 ^c	4,82 ± 0,01 ^{ab}	12	6,28 ± 0,04 ^a	3,12 ± 0,06 ^{def}	128,00 ± 1,41 ^a	19,23 ± 0,32 ^{ef}	430,40 ± 1,41 ^b	67,36 ± 0,05 ^b	2,20 ± 0,28 ^{ab}
FE.2	0,40 ± 0,01 ^{ab}	4,80 ± 0,01 ^{abc}	12	5,28 ± 0,04 ^d	3,08 ± 0,02 ^{ef}	117,50 ± 0,71 ^{bc}	20,30 ± 0,21 ^d	436,40 ± 16,97 ^b	65,65 ± 0,10 ^d	1,65 ± 0,21 ^{abc}
FE.3	0,25 ± 0,01 ^d	4,83 ± 0,01 ^a	12	5,78 ± 0,04 ^c	4,55 ± 0,05 ^a	124,00 ± 4,24 ^{ab}	21,80 ± 0,21 ^c	387,40 ± 35,36 ^b	73,29 ± 0,40 ^a	2,45 ± 0,07 ^a
FE.4	0,38 ± 0,02 ^{bc}	4,81 ± 0,00 ^{ab}	12	6,05 ± 0,01 ^b	3,14 ± 0,06 ^{def}	105,50 ± 0,71 ^d	19,75 ± 0,21 ^{de}	480,90 ± 14,85 ^b	64,78 ± 0,50 ^{de}	1,83 ± 0,46 ^{abc}
M.1	0,40 ± 0,01 ^{ab}	4,71 ± 0,01 ^d	12	5,78 ± 0,04 ^c	3,20 ± 0,06 ^{de}	122,50 ± 0,71 ^{ab}	19,33 ± 0,25 ^e	490,40 ± 55,15 ^b	64,78 ± 0,08 ^{de}	1,60 ± 0,14 ^{abc}
M.2	0,40 ± 0,01 ^{ab}	4,77 ± 0,01 ^{bc}	12	5,78 ± 0,04 ^c	3,23 ± 0,01 ^d	94,30 ± 0,71 ^e	19,83 ± 0,18 ^{de}	441,90 ± 10,61 ^b	66,82 ± 0,15 ^{bc}	0,78 ± 0,25 ^c
M.3	0,42 ± 0,01 ^{ab}	4,54 ± 0,01 ^e	12	6,05 ± 0,01 ^b	3,13 ± 0,02 ^{def}	108,00 ± 0,00 ^{cd}	21,78 ± 0,18 ^c	368,40 ± 4,24 ^b	63,91 ± 0,50 ^e	1,20 ± 0,50 ^{bc}
M.4	0,40 ± 0,01 ^{ab}	4,58 ± 0,01 ^e	12	6,05 ± 0,01 ^b	3,05 ± 0,00 ^f	119,00 ± 1,41 ^{ab}	22,28 ± 0,25 ^c	463,90 ± 67,18 ^b	62,58 ± 0,18 ^f	1,05 ± 0,28 ^c

TA = teor alcoólico (°GL), Cor = cor (EBC), T = turbidez (NTU) e A = amargor (IBU); CF = compostos fenólicos (mg Ác. galico.L⁻¹) ** 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.

O Teor alcoólico da fermentação está ligado diretamente ao grau real de fermentação, que demonstra uma leitura de respostas semelhantes de acordo com os tratamentos de amostras.

Como é possível observar, as amostras com maior teor alcoólico também têm o maior grau de fermentação real. De acordo com Strong e England (2015), as amostras seguiram um padrão de teor alcoólico aceitável e dentro do estipulado para cervejas tipo Lager .

As amostras demonstraram diferenças significativas entre si, e mantiveram um teor alcoólico considerado médio de acordo com Silva (2016).

As variações de teor alcoólico podem ser explicadas pelo fato de serem amostras tratadas em diferentes frascos. Essa diferenciação no processo pode ter ocorrido durante qualquer etapa, causada por uma má fermentação, ou um envase incorreto, influenciando diretamente no produto final.

A amostra controle pode ter adquirido um teor alcoólico maior, pois foi manuseada apenas uma vez em cada etapa, diferente das demais amostras com os teores de lúpulo que, por terem sido abertas mais de uma vez por dias consecutivos, podem ter incorporado oxigênio durante o processamento.

A coloração das cervejas variou significativamente entre as amostras, mesmo com um desvio padrão considerado baixo, demonstrando que a amostra controle obteve uma coloração mais clara que as demais de tratamento com porcentagens de lúpulo. De acordo com Rosa, et al. (2006), além do malte ser o principal componente da produção de cerveja que designará a característica de cor, outros fatores extrínsecos e intrínsecos podem causar a mudança de cor entre uma formulação e outra, desde a levedura, ingredientes frutados, e ou de aprimoramento da cerveja.

Em relação aos compostos fenólicos, as amostras não tiveram uma diferença significativa entre si. Apesar de um desvio padrão alto, todas se correlacionam,

demonstrando uma quantidade de compostos fenólicos considerável em relação ao extrato de carqueja, que, de acordo com Schuina (2018), que determinou compostos fenólicos do extratos de plantas amargas, dentre elas a carqueja, encontrou valores próximos a 630 mg/L de ácido gálico, o maior valor dentre as plantas em estudo. De uma forma geral, uma maior atividade antioxidante está diretamente correlacionada com maior teor de compostos fenólicos totais, e entre as formulações pode-se observar que, com incorporação ou não das porcentagens de lúpulo em estudo, não diferenciaram significativamente o potencial antioxidante.

O teor de amargor de todas as amostras demonstrou-se extremamente baixo comparado as cervejas Lager (SILVA; FARIA, 2008) que segue com um padrão entre valores de 10 e 15 IBU. Mas, os resultados estão diretamente relacionados ao método, que estão ligados aos iso-alfa-ácidos provenientes do lúpulo. As amostras com a maior porcentagem de lúpulo (F1; FE.1; FE.3; M.1; M.3), em suas determinadas etapas de processamento, obtiveram um maior teor de amargor em comparação com a menor porcentagem de lúpulo em estudo (0,01%).

Toda cerveja tem novos resultados após um processamento. Por isso, por mais que sejam seguidos uma metodologia e um fluxograma, cada nova cerveja terá suas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas diferentes. Assim, a necessidade de análises qualitativas após o final de cada produção.

5.3 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada após a escolha das formulações de incorporação do lúpulo nas etapas de fervura e no começo da maturação, determinando cinco tipos de amostras para a avaliação, a amostra controle (C), a de 0,1% e a de 0,01% de lúpulo (F.1 e F.2) na etapa de fervura e nessas mesmas porcentagens na etapa de início da maturação (M.1 e M.2).

Foram recrutados 100 avaliadores, e a análise foi realizada em apenas uma sessão, com o volume de 30 mL por amostra.

Como mostra a Tabela 8, a visão geral é de que as amostras se assemelham em muitos parâmetros, não demonstrando diferença significativa entre elas, principalmente em relação a parâmetros principais como amargor e sabor, que em pesquisa demonstram um ótimo resultado, já que a intenção é que não haja diferença significativa entre uma amostra controle com apenas carqueja, e as de tratamento com lúpulo.

Tabela 8. Aceitação sensorial das cervejas.

Amostra	Aparência	Aroma	Amargor	Sabor	Corpo	Aceitação Global	Amargor Ideal	Intenção de compra
C	7,02 ± (1,52) ^a	6,87 ± (1,64) ^a	6,41 ± (1,65) ^a	6,14 ± (1,85) ^a	6,31 ± (1,61) ^a	6,46 ± (1,59) ^a	5,36 ± (1,51) ^a	3,26 ± (1,15) ^{ab}
F.1	7,52 ± (1,42) ^b	6,92 ± (1,53) ^a	6,10 ± (2,05) ^a	6,05 ± (2,00) ^a	6,53 ± (1,66) ^a	6,27 ± (1,85) ^a	5,83 ± (1,69) ^b	3,21 ± (1,18) ^a
F.2	7,33 ± (1,59) ^{ab}	6,87 ± (1,83) ^a	6,55 ± (1,90) ^a	6,50 ± (1,96) ^a	6,82 ± (1,77) ^a	6,64 ± (1,77) ^a	5,21 ± (1,48) ^a	3,46 ± (1,23) ^{ab}
M.1	7,26 ± (1,55) ^{ab}	6,95 ± (1,74) ^a	6,76 ± (1,86) ^a	6,61 ± (1,89) ^a	6,48 ± (1,61) ^a	6,68 ± (1,73) ^a	5,18 ± (1,45) ^a	3,61 ± (1,19) ^b
M.2	7,33 ± (1,37) ^{ab}	7,03 ± (1,62) ^a	6,49 ± (1,87) ^a	6,40 ± (1,80) ^a	6,49 ± (1,70) ^a	6,64 ± (1,77) ^a	5,33 ± (1,46) ^a	3,40 ± (1,15) ^{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.

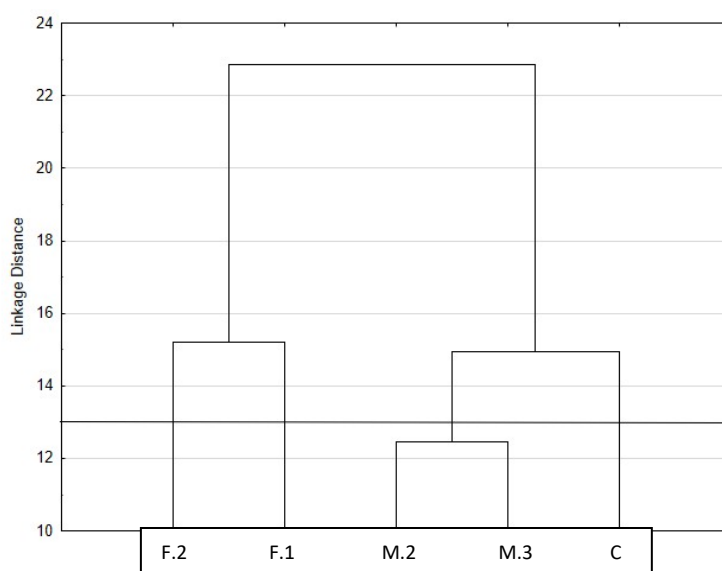
As amostras também não demonstraram diferenças significativas nos parâmetros de aroma, corpo e aceitação global, seguindo um mesmo padrão de resultado, demonstrando que a presença ou não do lúpulo não influencia diretamente na aceitação dos avaliadores.

5.3.1. Aparência

Como mostra a Figura 11, houve um agrupamento das amostras M.1 e M.2, demonstrando que foram analisadas de forma semelhantes entre si, e as demais amostras foram avaliadas de formas distintas.

Pode-se também observar que a menor nota de aparência, de acordo com a Tabela 8, está avaliada para a amostra controle, distinguindo-a das demais com uma menor aceitabilidade.

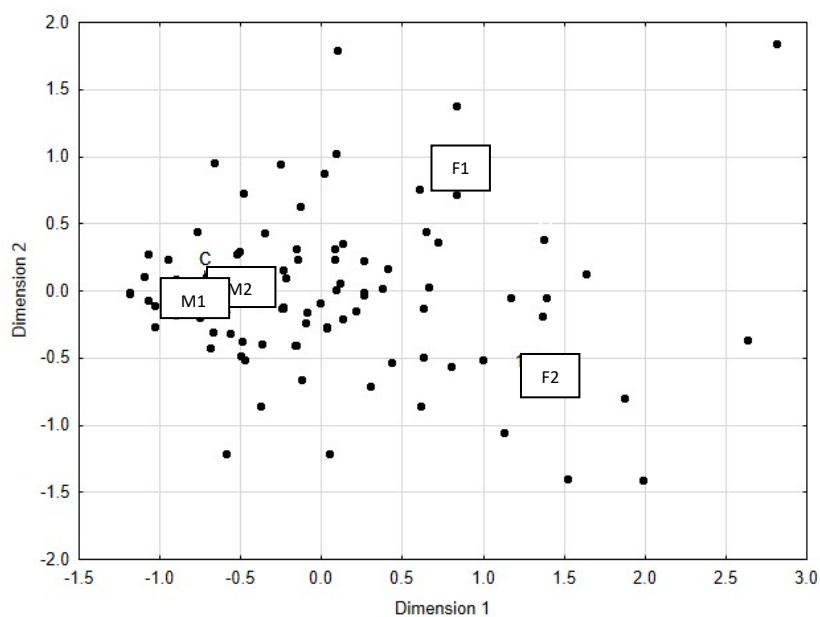
Figura 11. Dendograma resultante da análise de *cluster* para aparência.



Fonte: Elaborado pela autora.

O mapa de preferência interno demonstra, de forma mais clara, o possível agrupamento destas amostras (Figura 12). Observa-se que as amostras F.1 e F.2 estão mais distantes do agrupamento da maioria dos provadores, assim, demonstrando que foram avaliadas de forma menos aceitas em comparação com as amostras controle, M.1 e M.2.

Figura 12. Mapa de preferência interno para aparência.

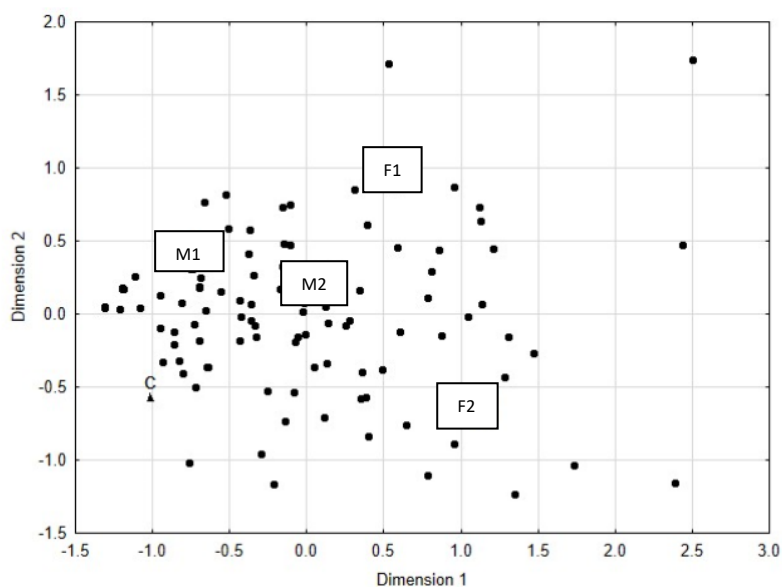


Fonte: Elaborado pela autora.

5.3.2 Aroma

Para o parâmetro de aroma, as amostras não foram avaliadas com diferença significativa entre si, determinando-as em um mesmo grupo de aceitação. A visão mais clara da aceitabilidade do aroma está na Figura 13, que mostra mais uma vez a proximidade das amostras controle, M.1 e M.2, demonstrando que foram avaliadas de forma semelhante e tem uma maior aceitabilidade perante os avaliadores.

Figura 13. - Mapa de preferência interno de aroma

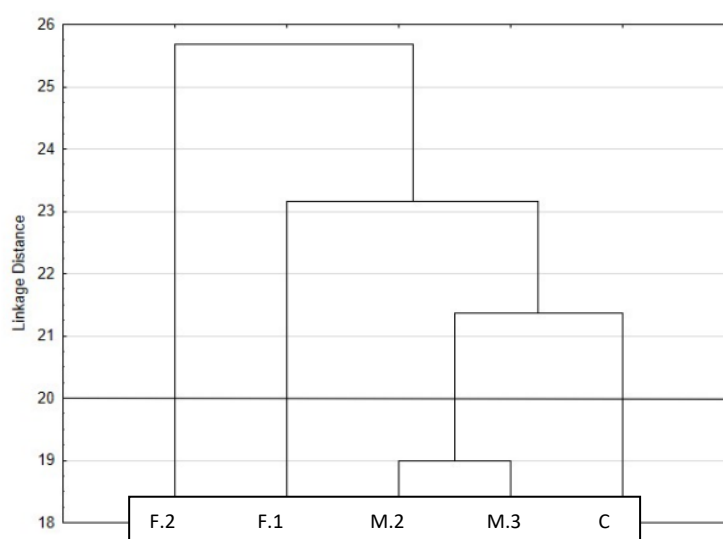


Fonte: Elaborada pela autora.

5.3.3 Amargor

As amostras para o parâmetro de amargor seguem o mesmo padrão sensorial, sem nenhuma diferença significativa entre as amostras. De acordo com a análise de *Cluster*, as amostras de tratamento M.1 e M.2 foram avaliadas de forma semelhante, formando um grupo em relação as demais amostras (Figura 14).

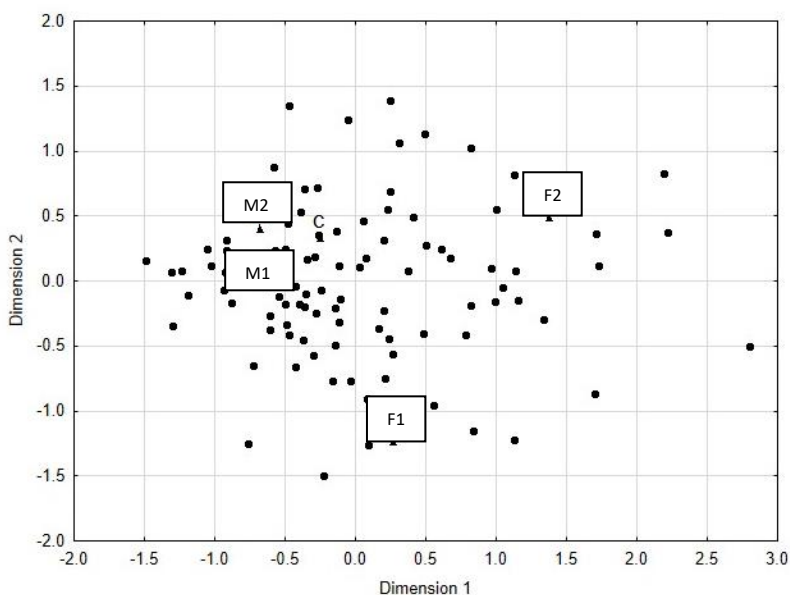
Figura 14. Dendograma resultante da análise de Cluster para aroma das cervejas.



Fonte: Elaborado pela autora.

É possível visualizar pelo mapa de preferência interno, o agrupamento das amostras controle, M.1 e M.2 na maior aceitabilidade pelos avaliadores. Já as amostras F.1 e F.2 demonstraram um distanciamento da maior aceitabilidade, ainda que a F.2 foi a mais distante a ser aceita que as demais amostras (Figura 15).

Figura 15. Mapa de preferência interno para amargor.



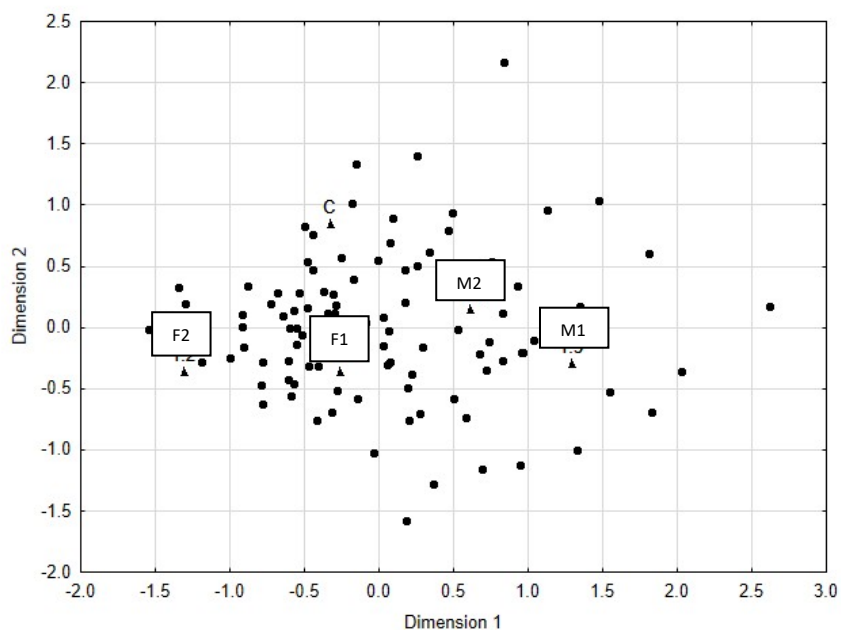
Fonte: Elaborado pela autora.

5.3.4 Sabor

O sabor foi um parâmetro de análise que não demonstrou diferença significativa entre as amostras, mantendo-as no mesmo grupo de aceitabilidade.

Como mostra a Figura 16 no mapa de preferência interno de sabor, os avaliadores tiveram um mesmo comportamento de avaliação entre as amostras, mantendo-as semelhantes entre si, ou seja, não havendo uma percepção de diferença de sabor. Mais uma vez provando que a presença do lúpulo, mesmo em sua porcentagem mais alta, não influencia na aceitabilidade em relação a amostra controle.

Figura 16. Mapa de preferência interno de sabor.



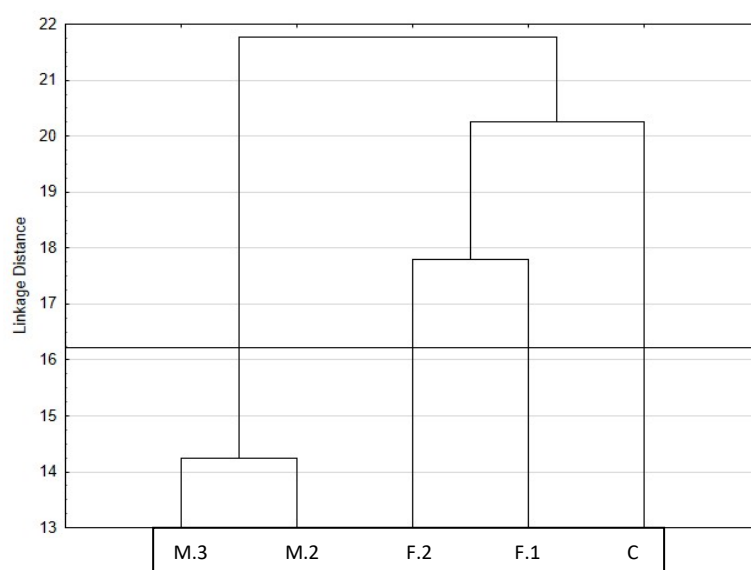
Fonte: Elaborado pela autora.

5.3.5 Corpo

Em relação ao corpo das cervejas, apesar de não haver diferenças significativas entre as amostras, as mesmas foram agrupadas em quatro grupos, sendo as de tratamento M.1 e M.2 definidas em um mesmo *cluster*, e as demais foram analisadas de forma distintas (Figura 17).

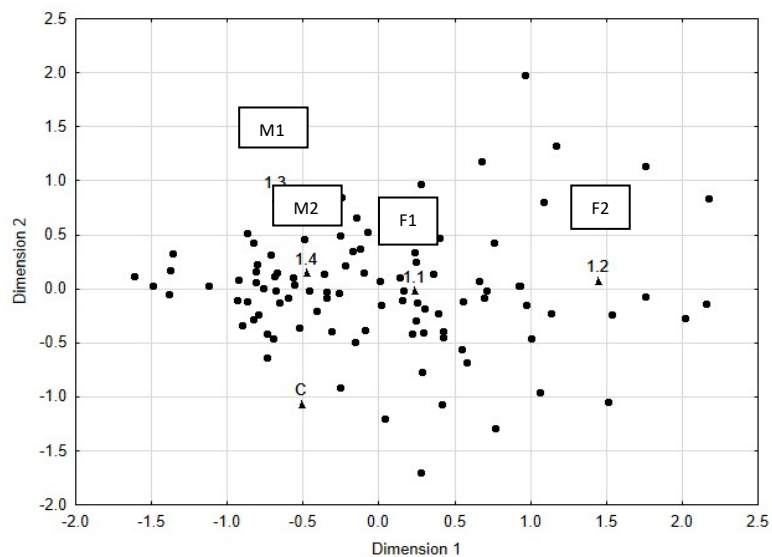
No mapa de preferência interno (Figura 18), é possível observar as amostras M.1, M.2 e a controle nos pontos centrais da figura, onde há a aglomeração da aceitabilidade por essas amostras pelos avaliadores.

Figura 17. Dendograma resultante da análise de cluster para corpo das cervejas.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 18. Mapa de preferência interno para o corpo da cerveja.



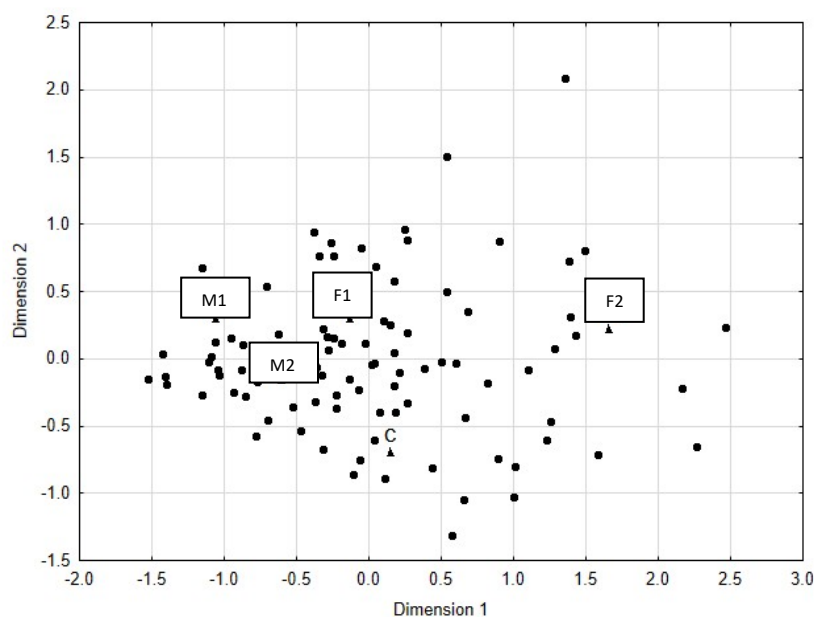
Fonte: Elaborado pela autora.

5.3.6 Aceitação Global

De acordo com a Tabela 8, as amostras não demonstraram uma diferença significativa entre elas. A aceitação global manteve uma média na escala de 6 pontos, o que mostra uma positividade na aceitabilidade pelos avaliadores, já que excede a metade da escala (1 a 9).

Como é possível observar na Figura 19, o mapa de preferência interno para o parâmetro de aceitação global demonstra um agrupamento na maior aceitabilidade pelos avaliadores entre as amostras F.1, M.2, M.1 e a controle, apenas se distanciando da aceitabilidade majoritária a amostra de tratamento F.2.

Figura 19. Mapa de preferência interno para a aceitação global das cervejas.



Fonte: Elaborado pela autora.

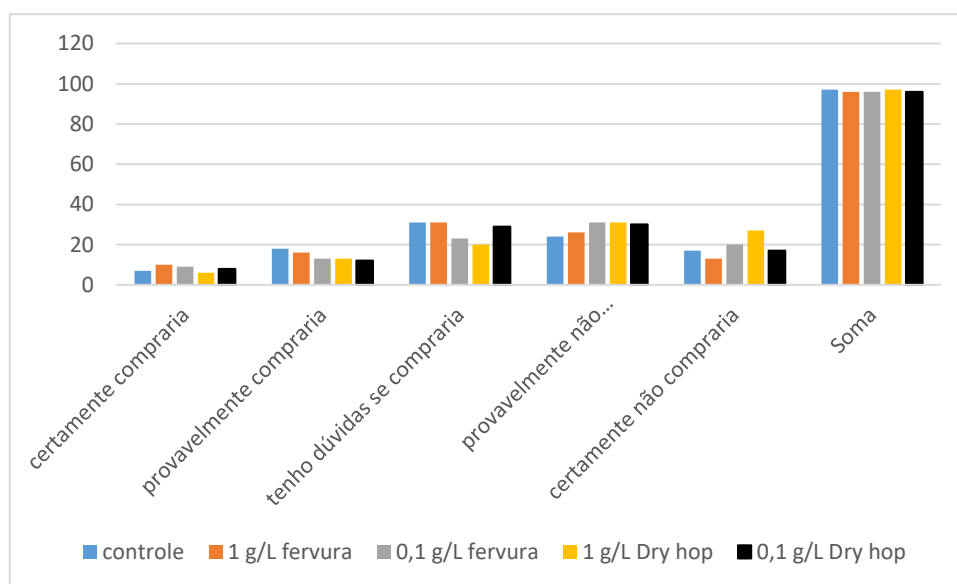
5.3.7. Intenção de compra

Como mostra o Gráfico 4, a maior parte dos avaliadores tem dúvidas se compraria a cerveja ou provavelmente não compraria.

A cerveja de formulação M.1 teve o maior número de avaliadores determinando que certamente não comprariam esta amostra. Já a cerveja de formulação F.1 teve o número maior entre os avaliadores que certamente comprariam.

A amostra controle não teve uma diferença significativa com as demais amostras, mostrando uma semelhança com as outras quatro formulações para a intenção de compra (Gráfico 4).

Gráfico 4. Intenção de compra de todas as amostras de cerveja.



6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados expostos, conclui-se que é possível a elaboração de uma cerveja com apenas carqueja em sua composição, assegurando os padrões microbiológicos e físico-químicos de uma produção de cerveja artesanal.

As cervejas com carqueja e uma porcentagem pequena de lúpulo não tiveram diferenças significativas para a aceitação sensorial, assim, podemos concluir que a substituição total e parcial do lúpulo pela carqueja é bem aceita.

As propriedades físico-químicas são perceptíveis na diferença para as cervejas com a adição de lúpulo em comparação com as amostras isentas do mesmo, sendo mais próximas ao padrão físico-químico de cervejas do tipo Lager.

A carqueja pode ser uma fonte de substituição total e ou parcial do lúpulo nas formulações de cervejas artesanais e, ainda, ser um objeto de estudo para melhor avaliar seus compostos que proporcionam o amargor, propiciando um bom potencial para o mercado cervejeiro e entre outros de interesse.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- 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.
- 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.
- ALTINO, H. O. N. et al. Operações unitárias aplicadas a produção de cerveja artesanal. **CENAR**, v. 1, n. 1, p. 1–4, 2015.
- BAMFORTH, C. W. Nutritional aspects of beer — a review. **Nutrition Research**, v. 22, p. 227–237, 2002.
- BAXTER, E. D.; HUGHES, P. S.; *Beer: quality, safety and nutritional aspects*, 1st ed. Editora Royal society of Chemistry. Inglaterra, 2001.
- 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.
- BENITES, J. L.; FORSTER, A.; KEUKELEIRE, D.; MOIR, M.; SHARPE, F. R.; VERHAGEN, L. C.; WETWOOD, K. T.; *Hops and Hop Products*, Verlag Hans Carl: Nurenberg, 1997.
- BEHERA, S.; KAR, S.; MOHANTY, R. C.; RAY, R. C. Comparative study of bioethanol production from mahula (*Madhuca latifolia* L.) flowers by *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized in agar agar and Ca-alginate matrices. *Applied Energy, Orissa*, v. 87, p. 96-100, 2010.
- BONA, C. M. et al. **Carqueja: Cultive esta idéia**. Curitiba: [s.n.], 2012.

BOGDAN, P.; KORDIALIK-BOGACKA, E. Alternatives to malt in brewing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 65, p. 1–9, 2017.

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.

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.

BRASIL, Ministério da Agricultura. 2009. Decreto nº 6871 de 14 de junho de 2009 – MAPA. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm. Acesso em 12 fev. 2020.

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

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

DANERI-CASTRO, S. N.; SVENSSON, B.; ROBERTS, T. H. Barley germination: Spatio-temporal considerations for designing and interpreting “omics” experiments. **Journal of Cereal Science**, v. 70, p. 29–37, 2016.

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

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.

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.

FLANDRIN, J. História da Alimentação. Editora Estação Liberdade Ltda. 6 ed, São Paulo, 2009. p.478 - 495.

FLORES, D. Cereais: Tipos de Cereais: Milho, Aveia, Centeio, Cevada, Sorgo, Painço, Triticale, Amaranto Trigo. **Brasil, 2015. Disponível em:** <https://deborahcbflores.wordpress.com/2015/03/>.

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.

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

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

INTELMANN, D. et al. 18O stable isotope labeling, quantitative model experiments, and molecular dynamics simulation studies on the trans-specific degradation of the bitter tasting iso-alpha-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, 2016.

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

KAUT, N. N. N.; et al. **Baccharis trimera (Carqueja) Improves Metabolic and Redox Status in an Experimental Model of Type 1 Diabetes**. 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30622608/?from_term=RABELO%3B+COSTA%2C+2018&from_pos=4. Acesso em: 3 dez. 2019.

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.

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

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

LI, Q.; WANG, J.; LIU, C. Beers. In: **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Food and Beverages Industry**. Beers. p. 305–351, 2016.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de etanol. **Biotecnologia industrial**. Blucher, v.3, p. 1-39, 2001.

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.

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

MAPA, M. DA A. P. E A. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 54 DE 5 DE NOVEMBRO DE 2001. Brasil, 2001. Disponível em: <<http://www.planalto.gov.br>>

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. 1. ed. São Paulo: Larousse, 2011.

NJONGMETA et al. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Cap 19. Estados Unidos 2015.

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).

OSTERGAARD, S.; OLSSON, L.; NIELSEN, J. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 64, n. 1, p. 34-50, 2000.

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.; *How to brew: everything you need to know to brew great beer every time*, 4th ed., Brewers Publications, 2017.

PICCINI, A. R.; Moresco C.; Munhoz L. Cerveja. 2002. Página da Internet. Disponível em <<http://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcereia/serveja/>>.

PORTO, P, D. Tecnologia da fabricação do malte: uma revisão. Porto Alegre, 2011. Disponível em:<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/56455/000857950.pdf>

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

REDDY, A. V. R., et al. Fouling resistant membranes in desalination and water recovery. **Elsevier**. Santa Margherita, Italy, p. 301-306. 25 fev. 2005. Disponível em: <https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/43993683/Fouling_resistant_membranes_in_desalinat20160322-10858-1hrcpr1.pdf?>>. Acesso em: 2 dez. 2019.

REINOLD, T, C. Estilos de cerveja desenvolvidos, 2015. Disponível em: <<https://www.cervesia.com.br/cervesia/estilos-de-cerveja-desenvolvidos.html>>

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.

RETTBERG, N., et. al. Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools – A Review. 2018. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03610470.2017.1402574>>

ROSA, S.E.S.; COSENZA, J.P.; LEÃO, L.T.S. Panorama do setor de bebidas no Brasil. BNDES Setorial, n. 23, p. 101-150, 2006.

ROSENTHAL, R. O que é a maltagem e como funciona seu processo. 2019. Disponível em: <<https://www.hominilupulo.com.br/universo-da-cerveja/maltagem/>>

SANTOS, S. P. Os Primórdios da Cerveja no Brasil. Ateliê Editorial. 1 ed, Cotia, 2003.

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, 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.

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.

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

SCHUINA, G. L. Utilização de plantas amargas em substituição ao lúpulo na produção de cerveja artesanal tipo American Lager. São José do Rio Preto, 2018.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. Herbarium. In: HERBARIUM, P. (Ed.). . **compêndio de fitoterapia**. Curitiba: [s.n.], p. 85–86, 1997.

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

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 BENEDEN, 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.

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.

- WALKER, G. M. Yeast Physiology and Biotechnology. Chichester: John Wiley e Sons, 1998. p. 362. s) 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.
- ZSCHOERPER, O. P. **Apostila curso cervejeiro e malteador**. [s.l.] Ambev, 2009.

APENDICE A – Ficha de frequência de consumo de cerveja.

Por favor, preencha o questionário com todas as informações solicitadas.

Nome: _____ Idade: _____ Data: ____/____/____

Sexo: () Feminino () Masculino

Fumante: () Sim () Não

Consumidor de cerveja artesanal: () Sim () Não

1. Utilizando a escala abaixo, indique o quanto você gosta ou desgosta de:

(5) Gosto muito

(4) Gosto pouco

(3) Nem gosto/nem desgosto

(2) Desgosto pouco

(1) Desgosto muito

() Cervejas comerciais (ex: Pilsen, Cervejas leves)

() Cervejas artesanais leves e pouco amargas

() Cervejas artesanais amargas

2. Utilizando a escala abaixo, indique com qual frequência, em média, você consome:

(5) 4 vezes/semana ou mais

(4) 2 a 3 vezes/semana

(3) 1 vez/semana

(2) 1 vez/quintzena

(1) Não consumo

() Cervejas comerciais (ex: Pilsen, Cervejas leves)

() Cervejas artesanais leves e pouco amargas

() Cervejas artesanais amargas

Motivos para

consumo: _____

APENDICE B - Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 466/2012/Resolução 510/2016)

Você está sendo convidado a participar como voluntário do projeto de pesquisa “AVALIAÇÃO DO PROCESSO CERVEJEIRO COM A SUBSTITUIÇÃO PARCIAL E TOTAL DO LÚPULO POR CARQUEJA” sob responsabilidade da pesquisadora Carolina Kurebayashi Velloso, CPF 419.571.378-19 e RG 35.387.457-7. Serão recrutados julgadores para avaliar a aceitação sensorial de 5 amostras de cerveja de carqueja. Seus dados pessoais serão mantidos em sigilo. Haverá um risco mínimo para a saúde física, sendo produtos de uso comum e manipulados segundo as Boas Práticas de Fabricação. Serão excluídos indivíduos com idade inferior a 18 anos, gestantes, hipertensão arterial, diabetes, doença celíaca, intolerância à lactose ou a qualquer componente da formulação, problemas com ingestão de álcool e/ou mais problemas detectados. A quantidade de produto consumida será abaixo da considerada moderada. Caso algum indivíduo apresente alguma reação, este será encaminhado para a Seção Técnica de saúde do IBILCE. Você poderá consultar o (a) pesquisador (a) 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 só serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas. Você será informado de todos os resultados obtidos, independentemente do fato de estes poderem mudar seu consentimento em participar da pesquisa. Você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. Este estudo é importante porque seus resultados fornecerão informações para a possível utilização de novas matérias primas na substituição do lúpulo, para a produção cervejeira.

Diante das explicações, se você concorda em participar deste projeto, forneça os dados solicitados e coloque sua assinatura a seguir.

Nome: _____ R.G. _____

Endereço: _____ Fone: _____

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

Assinatura do Participante

Assinatura do Pesquisador (a) responsável

OBS.: Termo apresenta duas vias, uma destinada ao participante e a outra ao pesquisador.

Nome Pesquisador(a): Carolina Kurebayashi Velloso	Cargo/Função: mestranda
Instituição: Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos/ IBILCE/ UNESP	
Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth, São José do Rio Preto/ SP	
Telefone: (17) 3221 – 2200 – Ramal 2713	
Projeto submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do IBILCE/UNESP Rua Cristóvão Colombo, 2265. Bairro: Jardim Nazareth. São José do Rio Preto/SP – Fone 17-3221.2480 e 3221.2545	