

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (UFMG)  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**FÁBIO FERREIRA FLORÊNCIO**

**PRODUÇÃO DE CERVEJAS DE ALTA FERMENTAÇÃO UTILIZANDO  
LINHAGENS INDÍGENAS DE *Saccharomyces cerevisiae***

Belo Horizonte  
2022

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (UFMG)  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

FÁBIO FERREIRA FLORÊNCIO

**PRODUÇÃO DE CERVEJAS DE ALTA FERMENTAÇÃO UTILIZANDO  
LINHAGENS INDÍGENAS DE *Saccharomyces cerevisiae***

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Microbiologia Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luciana Rocha Brandão

Belo Horizonte  
2022

043

Florêncio, Fábio Ferreira.

Produção de cervejas de alta fermentação utilizando linhagens indígenas de *Saccharomyces cerevisiae* [manuscrito] / Fábio Ferreira Florêncio. – 2022.  
74 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa. Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Luciana Rocha Brandão.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Cerveja. 3. *Saccharomyces cerevisiae*. 4. Fermentação. I. Rosa, Carlos Augusto. II. Brandão, Luciana Rocha. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 579

# ATA DE APROVAÇÃO

SEI/UFMG - 1129283 - Ata de defesa de Dissertação/Tese

[https://sei.ufmg.br/sei/controlador.php?acao=documento\\_i](https://sei.ufmg.br/sei/controlador.php?acao=documento_i)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
MESTRADO PROFISSIONAL EM MICROBIOLOGIA APLICADA ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
PROFISSIONAL DE  
FÁBIO FERREIRA FLORÊNCIO

Nº REGISTRO 2018754160

Às 14 horas do dia 03 de dezembro de 2021, reuniu-se, de forma virtual, na plataforma Google Meet, a Comissão Examinadora composta pela Dr. Bruno Gonçalves Botelho-UFMG, Dra. Beatriz Martins Borelli, Faminas, e o Orientador, Prof. Carlos Augusto Rosa - ICB-UFMG, para julgar o trabalho final, "Produção de cervejas de alta fermentação utilizando linhagens indígenas de *Saccharomyces cerevisiae*" do candidato, FÁBIO FERREIRA FLORÊNCIO, requisito final para obtenção do grau de MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Profa.

Erna Geessien Kroon – Coordenadora do Curso, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares, passou a palavra ao candidato, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Em seguida, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato, e do público, para julgamento e expedição de resultado final. O candidato foi considerado APROVADO. O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte 03 de dezembro de 2021.

Dr. Bruno Gonçalves Botelho

Dra. Beatriz Martins Borelli

Prof. Carlos Augusto Rosa (orientador)

Belo Horizonte, 06 de dezembro de 2021.

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Augusto Rosa, Diretor(a) de centro**, em 06/12/2021, às 16:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Erna Geessien Kroon, Coordenador(a) de curso de pós-graduação**, em 07/12/2021, às 09:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Goncalves Botelho, Professor do Magistério Superior**, em 07/12/2021, às 12:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Beatriz Martins Borelli, Usuário Externo**, em 07/12/2021, às 19:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1129283** e o código CRC **9FEBB224**.

*Dedico este trabalho à memória do meu grandioso pai, José Florêncio (In memoriam), que nos deixou em meio à esta produção e que, apesar de todas as dificuldades, me ensinou a contorná-las e a superar com garra os percalços da vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha esposa, Graciele, que sempre me estimulou e me apoiou em todos meus projetos e sonhos.

À cervejaria Loba, em especial ao Jonathan e ao Kelvin, pela colaboração e fomentação da pesquisa.

Ao professor orientador Carlos Augusto Rosa, pelo incentivo, confiança e pela grande oportunidade em desenvolver o projeto em seu laboratório.

À Thelma, pela amizade sincera, pelas palavras de incentivo, e pela grande contribuição com meu crescimento.

À Marina, pela frequente disposição em compartilhar seus conhecimentos sempre com intuito de ajudar.

Às colegas Beatriz e Luciana, pelo auxílio no laboratório, pelo compartilhamento de conhecimento e pelo apoio e parceria de sempre.

Às colegas Ana Cristina, Ana Luiza, pela constante ajuda com minha pesquisa durante todo esse tempo.

Ao professor Bruno Botelho, pela grande colaboração com as análises físico-químicas em seu laboratório e pela disposição em contribuir com minha pesquisa.

À professora Erma, pela prontidão em me auxiliar no mestrado.

Ao grande amigo André, degustador das primeiras cervejas feitas por mim, e que sempre me incentivou desde os tempos da graduação.

Ao casal de amigos Francilene e Renato, pela abertura da sua empresa para as análises sensoriais e pelo apoio sempre.

*“Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho e sobre ele lança toda a força de sua alma, todo o universo conspira a seu favor”.*

Johann Goethe

## RESUMO

A produção de cerveja no Brasil ainda é, em sua grande maioria, dependente da importação de linhagens de leveduras. No Brasil existem poucas empresas que produzem e disponibilizam leveduras nacionais para as cervejarias, e isto mostra a importância de estudos visando à busca de novas linhagens brasileiras apropriadas para a produção de cervejas. Este estudo teve como objetivo testar duas linhagens indígenas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* isoladas de mosto de fermentação espontânea de cachaça, previamente selecionadas, identificadas como potenciais candidatas à produção de cerveja artesanal. O presente estudo testou estas linhagens de leveduras concomitantemente com uma linhagem comercial, em escala de 20 litros, baseada em um estilo Belga chamado *Belgian Pale Ale* sendo a bebida fabricada no formato “*homebrewer*”(cervejeiro caseiro). Após a produção da cerveja, foram realizadas análises sensoriais e foi aplicado um questionário de intenção de compra e teste de preferência. A cerveja com maior preferência foi conduzida para uma produção industrial na cervejaria LOBA, em Santana dos Montes (MG), onde foi utilizada a mesma receita baseada na anterior, mas em volume de 1.500 litros. Após a produção industrial, a cerveja passou novamente por análise sensorial e intenção de compra. Os resultados mostraram que a cerveja produzida em escala de 20 litros com a linhagem selecionada UFMG-CM-Y228 apresentou as melhores notas nos testes sensoriais quando comparada com a linhagem comercial e a outra linhagem selecionada. As cervejas produzidas foram também caracterizadas quanto à produção de ésteres, fenóis, álcoois superiores e outros metabólitos. A aceitação na análise sensorial das cervejas produzidas com a linhagem UFMG-CM-Y228 foi semelhante à cerveja fermentada com a linhagem comercial. O trabalho evidenciou que as linhagens estudadas podem fazer parte do catálogo de leveduras usadas para produção de cervejas no Brasil, contribuindo para uma maior oferta de linhagens cervejeiras tipicamente brasileiras.

**Palavras-chaves:** Cervejas especiais; *Saccharomyces cerevisiae*; Leveduras de cachaça; perfil sensorial; fermentação.



## ABSTRACT

The production of beer in Brazil is still mostly dependent on the importation of yeast strains for its preparation, which causes high costs. There are few companies in Brazil that produce national yeasts and make them available to breweries, resulting in beers with little national identity. This study aimed to test two previously selected and isolated indigenous *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains, of spontaneous fermentation must of 'cachaça', identified as potential candidates for craft beer production. This research tested two yeast strains concomitant with a commercial strain, on a 20-liter scale, manufactured according to the home brewer mold. After beer production, sensory analyses were performed, and a questionnaire for purchase intention and preference test was applied. The most preferred beer was taken to an industrial production at LOBA brewery in Santana dos Montes (MG), where it was used in the development of a recipe, called Belgian Pale Ale, based on the Belgian School for the production of 1,500 liters. After industrial production, the beer underwent a new sensory analysis and purchase intention. The results showed that the selected strain Y228 had positive analyses during the sensory tests. The beers produced were also characterized in relation to the production of esters, phenols, higher alcohol and other metabolites. The acceptance during the sensory analysis of the produced beers was similar to the beer used as control and fermented with a commercial yeast strain. This research showed that the studied strains can be part of the catalog of yeasts used for beer production in Brazil, contributing to a greater supply of typically Brazilian brewing strains.

**Keywords:** Special beers; *Saccharomyces cerevisiae*; Cachaça yeasts; Sensory profile; Fermentation.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 01:</b> Lúpulo em flor desidratada.....   | 18 |
| <b>Figura 02:</b> Lúpulo em <i>Pellets</i> .....  | 18 |
| <b>Figura 03:</b> Esquema geral das etapas de produção de cerveja .....   | 20 |
| <b>Figura 04:</b> Fundo falso utilizado para clarificação do mostro cervejeiro. ....  | 21 |
| <b>Figura 05:</b> Enzimas presentes no malte e suas condições ótimas de atividade.....  | 22 |
| <b>Figura 06:</b> Visão geral do metabolismo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dos compostos mais importantes da bebida .....  | 25 |
| <b>Figura 07:</b> Método usado para fabricação de cerveja em escala piloto ( <i>brewstand</i> ).<br>.....   | 34 |
| <b>Figura 08:</b> Rampas de mistura usadas na produção de cerveja em escala piloto....  | 35 |
| <b>Figura 09:</b> Painéis utilizadas para mistura dos grãos na produção industrial da<br>cerveja.....   | 37 |
| <b>Figura 10:</b> Resfriador Industrial .....   | 39 |
| <b>Figura 11:</b> Tanques fermentadores de 2.000 litros da Cervejaria Loba, Santana dos<br>Montes, MG.....  | 39 |
| <b>Figura 12:</b> Figura esquemática de um densímetro e sua utilização .....  | 40 |
| <b>Figura 13:</b> Crescimento celular nos baldes de fermentação das linhagens de<br><i>Saccharomyces cerevisiae</i> (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228 e<br>Y622) durante a produção da cerveja em escala piloto ..... | 44 |
| <b>Figura 14:</b> Crescimento celular na fermentação das linhagens de <i>Saccharomyces<br/>cerevisiae</i> (linhagem comercial e UFMG-CM-Y228) durante a produção<br>de cerveja em escala industrial .....             | 45 |
| <b>Figura 15:</b> Consumo de açúcares pelas linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i><br>(linhagem comercial e UFMG-CM-Y228 e 622) durante a produção da<br>cerveja em escala piloto .....                         | 46 |
| <b>Figura 16:</b> Consumo de açúcares pelas linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i><br>(linhagem comercial e UFMG-Cm-Y228) durante a produção de cerveja<br>em escala industrial.....                            | 47 |
| <b>Figura 17:</b> Produção de álcool pelas linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i><br>(linhagem comercial, UFMG-Cm-Y228 e UFMG-CM-Y662) durante a<br>produção de cerveja em escala piloto .....                  | 47 |
| <b>Figura 18:</b> Produção de álcool pelas linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i><br>(linhagem comercial e UFMG-Cm-Y228) durante a produção da cerveja<br>em escala piloto .....                                | 48 |
| <b>Figura 19:</b> pH da cerveja durante a fermentação pelas linhagens de <i>Saccharomyces<br/>cerevisiae</i> (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228 e 622) durante a<br>produção da cerveja em escala piloto .....         | 49 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 20:</b> Variação do pH da cerveja durante a fermentação pelas linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228) em escala industrial.....  | 49 |
| <b>Figura 21:</b> Teste de aceitação das cervejas produzidas pelas linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228 e UFMG-CM-Y622) em escala piloto .....   | 53 |
| <b>Figura 22:</b> Gráfico gerado a partir dos resultados do teste de aceitação das cervejas produzidas e fermentadas pelas linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228) em escala industrial..... | 54 |
| <b>Figura 23:</b> Teste de aceitação das amostras de cervejas produzidas pelas linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (linhagem comercial e UFMG-CM-Y228 e Y622) em escala piloto .....  | 56 |
| <b>Figura 24:</b> Teste de aceitação das amostras de cervejas produzidas com as linhagens de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (linhagem comercial e UFMG-CM-Y228) em escala industrial .....  | 57 |

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Concentração relativa de compostos voláteis avaliados pela técnica cromatografia gasosa e espectrometria de massas relacionados ao aroma e sabor das cervejas produzidas com a levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* M41 e *S. cerevisiae* UFMG-CM-Y228 em escala industrial.....50
- Tabela 2.** Valores médios atribuídos no teste de aceitação das amostras de cerveja produzidas em escala piloto com nota mínima de 1 (desgostei extremamente) e máxima de 7 (gostei extremamente) .....52
- Tabela 3.** Valores médios atribuídos no teste de teste de aceitação das amostras de cerveja produzidas em escala industrial com nota mínima de 1 (desgostei extremamente) e máxima de 7 (gostei extremamente) .....54

## LISTA DE SÍMBOLOS

|     |                             |
|-----|-----------------------------|
| P   | graus Plato                 |
| 1°P | 1% (m/m) de extrato solúvel |
| °C  | graus Celsius               |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                  |  |
|------------------|--|
| 4VG              | 4-vinyl guaiacol   |
| a.C              | antes de Cristo  |
| ABV              | Álcool por volume  |
| BJCP             | <i>Beer Judge Certification Program</i>  |
| CGC-MS           | <i>capillary gas chromatography-mass spectrometry</i>  |
| CG               | Cromatografia gasosa   |
| CG-MS            | Cromatografia gasosa/espectrometria de massas  |
| CLAE             | Cromatografia líquida de alta eficiência   |
| CO <sub>2</sub>  | Dióxido de carbono   |
| D.O.             | Densidade ótica  |
| DMS              | Dimetil sulfeto  |
| Ea               | extrato aparente ( <i>apparent extract</i> )   |
| EBC              | <i>European Brewery Convention</i>   |
| FAN              | <i>free amino nitrogen</i>   |
| FG               | Gravidade final  |
| GAF              | grau aparente de fermentação ou ADF ( <i>Apparent degree of fermentation</i> )                                     |
| HPLC             | <i>high performance liquid chromatography</i>  |
| HS-SPME          | <i>headspace-solid phase micro-extraction</i>  |
| H <sub>2</sub> S | Sulfeto de hidrogênio  |
| HS-SPME-GC/FID   | Cromatografia gasosa por microextração em fase sólida por <i>headspace</i> e detecção por espectrometria de massas |
| IBU              | <i>international bitterness units</i>  |
| ICB              | Instituto de Ciências Biológicas   |
| MAPA             | Ministério da agricultura e Pecuária   |
| OG               | Gravidade original   |
| TCLE             | Termo de consentimento livre e esclarecido   |
| SPME             | <i>solid-phase micro-extraction</i>  |
| UFC              | Unidade formadora de colônia   |
| YCB              | <i>Yeast Carbon Base</i>   |
| YM               | Ágar extrato de malte, extrato de levedura   |
| YPD              | <i>Yeast, peptone, dextrose</i>  |

## SUMÁRIO

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1     | INTRODUÇÃO .....  | 15 |
| 1.1   | A produção da cerveja .....   | 15 |
| 1.2   | Ingredientes da cerveja .....   | 15 |
| 1.3   | Desenvolvimento da produção de cerveja artesanal .....                      | 19 |
| 1.4   | Principais grupos de cervejas.....  | 23 |
| 1.5   | Leveduras usadas na fabricação de cervejas <i>Ale</i> .....                 | 23 |
| 1.6   | Metabolismo das leveduras <i>Ale</i> no mosto cervejeiro.....               | 24 |
| 1.7   | Novas linhagens de leveduras para a fabricação de cervejas artesanais ..... | 27 |
| 2     | JUSTIFICATIVA.....  | 29 |
| 3     | OBJETIVOS .....   | 31 |
| 3.1   | Objetivo Geral.....   | 31 |
| 3.2   | Objetivos Específicos .....   | 31 |
| 4     | MATERIAIS E MÉTODOS .....   | 32 |
| 4.1   | Leveduras.....  | 32 |
| 4.2   | Preparo e inóculo das leveduras: .....                                      | 32 |
| 4.3   | Contagem de células .....   | 33 |
| 4.4   | Produção de cerveja em escala piloto .....                                  | 33 |
| 4.5   | Produção em escala Industrial .....   | 36 |
| 4.6   | Acompanhamento da gravidade no decorrer da fermentação .....                | 40 |
| 4.7   | Análises cromatográficas.....   | 40 |
| 4.7.1 | Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....                        | 40 |
| 4.7.2 | Cromatografia gasosa e espectrometria de massas .....                       | 41 |
| 4.8   | Análise sensorial.....  | 42 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 5     | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                       | 44 |
| 5.1   | Avaliação do número de células durante a fermentação .....         | 44 |
| 5.2   | Medidas da densidade e produção de álcool e pH.....                | 46 |
| 5.3   | Análises físico-químicas das cervejas em escala industrial.....    | 50 |
| 5.4   | Análise e perfil sensorial das cervejas.....                       | 51 |
| 5.4.1 | Perfil sensorial das cervejas produzidas em escala piloto .....    | 51 |
| 5.4.2 | Teste de aceitação da cerveja produzida em escala industrial ..... | 53 |
| 5.5   | Teste de Intenção de compra .....                                  | 55 |
| 6     | CONCLUSÕES .....   | 58 |
| 7     | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                                    | 59 |
|       | ANEXOS .....   | 67 |



## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 A produção da cerveja

O desenvolvimento das técnicas de fabricação de cervejas está no rol das mais importantes tecnologias desenvolvidas pela humanidade. A bebida, conhecida hoje como cerveja, é produzida a partir da fermentação de diversos tipos de açúcares presentes em grãos maltados previamente cozidos.

A história da bebida é tão antiga quanto a civilização humana e guarda ligação com a mudança do estilo de vida nômade do homem para vida em assentamentos estáveis. Provavelmente, a descoberta do álcool e seus efeitos incentivaram a domesticação de animais e as práticas agrícolas (CABRAS; HIGGINS, 2016). O período ligado a esta transição é chamado de neolítico e compreende entre 10.000 a.C. e 4.000 a.C, onde se inicia o desenvolvimento de civilizações (SOLIERI, 2020).

Habitualmente, uma cerveja clássica é feita com quatro ingredientes: água, grãos maltados, lúpulo e leveduras (PALMER, 2019). De acordo com a legislação brasileira, a cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada maltada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo (MAPA, 2019).

### 1.2 Ingredientes da cerveja

A cerveja é produzida com quatro ingredientes básicos conforme descrito abaixo:

#### *Água*

A água faz parte de cerca de 94% da composição da cerveja e tem uma importância tão grande que, historicamente, diferentes regiões tornaram-se famosas por determinados tipos e estilos de cervejas em decorrência dos perfis de águas disponíveis naqueles locais (PUNČOCHÁŘOVÁ et al., 2019). Um excelente exemplo é a água de Pilsner na República Tcheca, de onde vem a cerveja mais famosa do estilo. A água de Pilsner favorece a produção de cervejas claras em decorrência da

baixa concentração de cátions cálcio e magnésio acompanhados dos ânions carbonato, bicarbonato, cloreto e/ou sulfeto, também conhecida como água mole.

Além de efeitos químicos e sensoriais, a água tem papel fundamental na solubilização e dispersão das enzimas presentes no mosto cervejeiro e, conseqüentemente, atua na quebra de amido em açúcares menores que serão metabolizados pela levedura na fermentação (KAMINSKI, 2021). Nesse contexto a água para a produção da cerveja deve ser potável, de acordo com a Portaria GM/MS n.º 888, de 4 de maio de 2021 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021) e, além disso, não deve conter cloro e deve ter pH favorável à ação de reações enzimáticas e não-enzimáticas. Sendo assim, é possível inferir que a água influencia vários parâmetros na produção da cerveja, inclusive no seu rendimento, que é um quesito importante para indústria (PUNČOCHÁŘOVÁ et al., 2019).

### *Cevada*

A cevada usada na cerveja passa por um processo chamado de malteação e após este processo obtém-se o malte. Portanto, pode-se definir que malte é qualquer grão ou cereal que tenha passado pelo processo de malteação. Quando o malte é proveniente de outro cereal, este é denominado, por exemplo, de “malte de trigo” ou “malte de aveia”. O malte irá disponibilizar o amido contido em seu endosperma primário e as enzimas responsáveis em quebrar este amido nos açúcares fermentáveis, que serão disponibilizados para a levedura cervejeira como forma de nutrientes e energia (BETTENHAUSEN et al., 2018). No processo de malteação, os grãos passam pelas seguintes etapas:

- **Maceração:** os grãos são umedecidos até que atinjam a umidade necessária para que aconteça a germinação forçada. Geralmente, a maceração decorre após três a cinco dias, em temperatura controlada que fica entre 10° e 12°C.
- **Germinação dos grãos:** a germinação consiste em um processo onde a temperatura e umidade são controladas para que o grão germine e, nesse momento, produza as enzimas necessárias para quebrar o amido posteriormente. O processo é interrompido quando surgem as radículas e caulículos. Este processo dura em torno de três a quatro dias e acontece em tanque retangular com grande área de contato.

- **Secagem e torra do malte:** esta etapa é necessária para que o grão perca umidade, parando, assim, o processo germinativo, a fim de interromper a produção enzimática. Nesse sentido, a secagem acontece em temperaturas que variam de 20°C a 100°C e será neste estágio que a maltaria irá produzir maltes mais claros ou mais escuros (MALLETT, 2021). Dessa forma, a cor do malte é medida em uma unidade chamada de EBC (*European Brewery Convention*) e estas cores ocorrem em sua maioria através da reação de Maillard. Esta é uma reação de escurecimento não enzimático que pode ocorrer em alimentos resultando na produção de aromas e sabores desejados conforme a necessidade do cervejeiro (SHIBAO; BASTOS, 2011).

### *Lúpulo*

O lúpulo é uma trepadeira da espécie *Humulus lupulus*, da família *Cannabaceae*, nativa da Europa, Ásia ocidental e América do Norte. O lúpulo para uso no processo produtivo é comercializado em sua maioria no Brasil de duas formas: *pellets* ou em flor (Figuras 1 e 2). O lúpulo é o ingrediente que dará amargor para a cerveja, equilibrando o dulçor residual do malte. Ele também pode conferir aroma à cerveja, quando necessário, em decorrência da receita ou da vontade do cervejeiro.

O amargor é proveniente de substâncias chamadas de alfa-ácidos e são extraídas na produção durante a fervura. Este processo é chamado de isomerização, e seu objetivo é tornar solúveis os alfa-ácidos no mosto conferindo amargor. Já no que diz respeito aos diversos aromas, estes são provenientes de várias substâncias aromáticas que, em sua maioria, são os óleos essenciais. O lúpulo ainda possui efeito bacteriostático, antioxidante e pode ajudar na retenção e formação de espuma no mosto (HIERONYMUS, 2020).



**Figura 01:** Lúpulo em flor desidratada.

**Fonte:** <http://teoriadecerveja.blogspot.com/2016/08/os-diferentes-pellets-de-lupulo.html>



**Figura 02:** Lúpulo em *Pellets*.

**Fonte:** <http://teoriadecerveja.blogspot.com/2016/08/os-diferentes-pellets-de-lupulo.html>

### *Levedura*

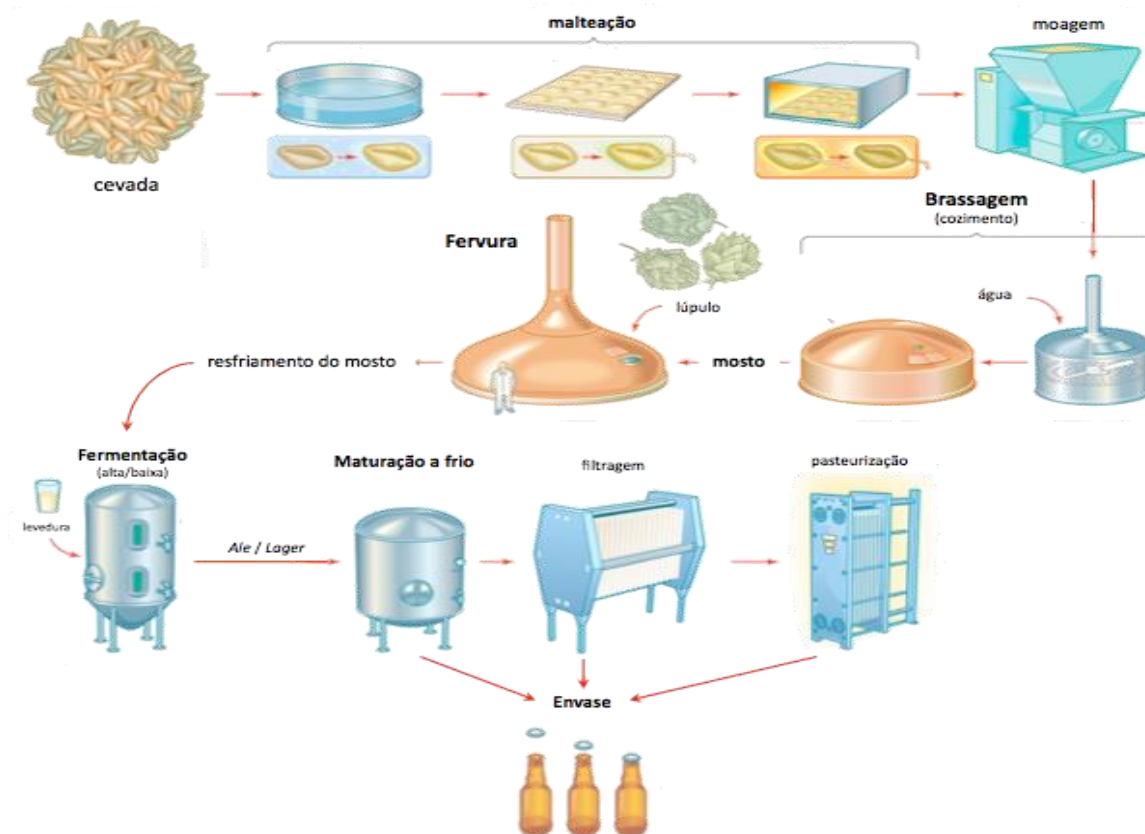
As leveduras são fungos unicelulares utilizados no processo de fermentação do mosto cervejeiro. Estes microrganismos geralmente são encontrados no mercado cervejeiro no formato líquido ou seco, em quantidades que variam de acordo com o tamanho final do lote de cerveja a ser produzido (NICHOLSON; PEARSON, 2014). As leveduras cervejeiras são onerosas e por isto, são reaproveitadas pelas cervejarias de lote a lote, onde uma quantidade de levedura é retirada da produção anterior, estocada em temperaturas baixas e utilizada na produção futura. Como poucas

cervejarias são equipadas com laboratórios, geralmente, as condições de reaproveitamento não são padronizadas.

As leveduras transformam os açúcares presentes no mosto em diversas substâncias, principalmente em gás carbônico, álcool e compostos secundários (ésteres, aldeídos, álcoois superiores, entre outros). As leveduras cervejeiras ainda são divididas em dois principais grupos: *Ale* (alta fermentação) representadas pela espécie *Saccharomyces cerevisiae*; e a *Lager* (baixa fermentação), representado por *Saccharomyces pastorianus* (WHITE:ZAINASSHEF, 2020).

### **1.3 Desenvolvimento da produção de cerveja artesanal**

A produção de cervejas pode ser dividida em duas etapas: quente e fria. Na etapa quente, ocorre o cozimento dos grãos e a quebra do amido em açúcares de cadeia menores. A etapa fria é quando os açúcares são metabolizados pelas leveduras sendo transformados em álcool, CO<sub>2</sub> e subprodutos da fermentação (SILVA, 2019). Para produzir uma cerveja deve-se obedecer a alguns passos básicos: moagem do cereal maltado, mosturação, clarificação, fervura, resfriamento, fermentação, maturação e envase da cerveja pronta (Figura 3). A maltagem do cereal geralmente não é feita na fábrica de cerveja, sendo que o malte já chega pronto para o uso (WILLAERT, 2006)



**Figura 03:** Esquema geral das etapas de produção de cerveja.

**Fonte:** <https://www.ocaneco.com.br/processo-de-producao-de-uma-grande-cervejaria/>

Antes da brasagem, o malte deve ser moído com o objetivo de expor o amido para a atuação enzimática de modo que as cascas permaneçam intactas com o intuito de funcionar como um filtro no momento da clarificação da cerveja. Esta moagem garante que haja exposição e maior contato do amido contido em seu interior com a água que será usada na fabricação do mosto. A moagem não deve ser tão fina a ponto de virar farinha e nem tão grossa a ponto de não expor o amido presente em seu interior. Se a moagem for fina demais, além de não garantir uma boa filtragem, durante a produção podem ser liberados “taninos” que trarão adstringência ao paladar do consumidor. Após a moagem os grãos são introduzidos na panela de mostura para que ocorra o processo de sacarificação.

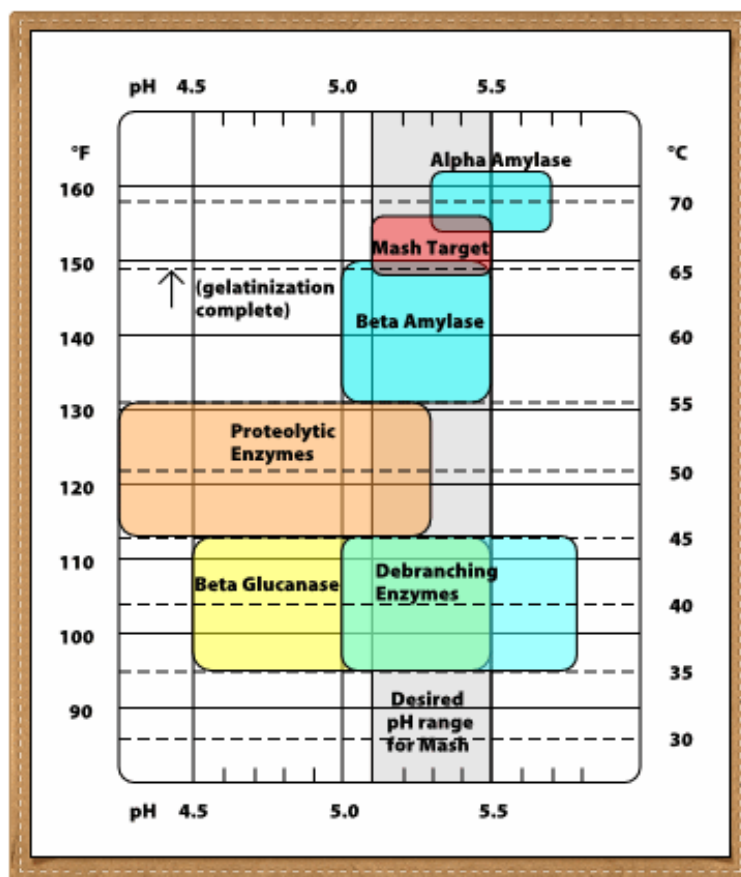
Neste processo, durante o cozimento dos grãos, as enzimas  $\beta$ -amilases e  $\alpha$ -amilases farão a conversão do amido presente em açúcares menores, que serão, mais tarde, utilizados pela levedura durante a fermentação. Estas enzimas agem de acordo com temperaturas e pH ótimos (Figura 5). Para saber se todo o açúcar foi extraído dos grãos, geralmente, é utilizado o teste do iodo. Neste teste, o iodo a 2% é colocado

em contato com o mosto. Ao ser misturado ao amido, ocorre uma mudança de cor que pode ser visível para o cervejeiro, indicando a finalização da mostura, quando a coloração estiver clara, ou seja, da própria cor do iodo. Entretanto, a mostura continuará sendo conduzida caso a coloração continue escura (SENAI, 2014).

Após o término da sacarificação, inicia-se o processo de clarificação ou filtragem do mosto, onde ocorre uma recirculação contínua do mesmo. Nesta etapa o mosto é recirculado por aproximadamente vinte minutos com ajuda de uma bomba elétrica, onde a própria casca do grão auxilia na filtragem de resíduos produzidos no processo. Ainda nesse processo é utilizado um fundo falso (Figura 4), nome dado a uma bandeja adaptada as dimensões da panela de mostura, sendo ela composta de vários furos e disposta pouco acima da torneira de extração do líquido. Dessa forma os grãos sedimentam neste fundo falso e após a recirculação apenas o líquido é retirado na torneira de extração (PALMER,2017).



**Figura 04:** Fundo falso utilizado para clarificação do mostro cervejeiro.  
**Fonte:**<https://www.indupropil.com.br/fundo-falso-aluminio-sob-medida.html>



**Figura 05:** Enzimas presentes no malte e suas condições ótimas de atividade. **Fonte:** Palmer (2006).

Após a clarificação e filtração do mosto, o bagaço do malte é separado do líquido. Este líquido é fervido por aproximadamente 60 minutos e os microrganismos presentes no mosto são eliminados. É nessa etapa que o lúpulo é adicionado para dar amargor e/ou aroma na cerveja. Dentre outras vantagens, o lúpulo possui função bacteriostática e o amargor gerado atua no equilíbrio do açúcar residual na cerveja pronta (HIERONYMUS, 2012). Após a fervura, o mosto precisa ser rapidamente resfriado para evitar a contaminação por outros microrganismos e, também, evitar a formação de compostos ruins para cerveja como o dimetilsulfeto (DMS) que confere aroma de legumes cozidos a bebida. Após o resfriamento, o mosto deve ser oxigenado para que a levedura possa ser adicionada para iniciar o processo de fermentação.

Na fermentação do mosto cervejeiro, diversos fatores podem interferir no processo, como a quantidade de células viáveis, as características metabólicas da levedura, temperatura na qual o inóculo é adicionado na dorna e a temperatura durante a fermentação. A fermentação termina quando não há mais açúcares a serem metabolizados pelas leveduras e estes açúcares são medidos através de um



densímetro (Figura 12). O tempo da fermentação pode variar conforme a linhagem da levedura utilizada, o conteúdo inicial de açúcares no mosto e a temperatura na qual a fermentação é conduzida (WHITE e ZAINASHEFF, 2010).

#### 1.4 Principais grupos de cervejas

As cervejas são classificadas principalmente em dois grandes grupos, de acordo com o tipo de fermentação e levedura utilizada no processo: as cervejas da família *Ale* e as da família *Lager*. Existe um terceiro grupo de fermentação classificado pela utilização de leveduras selvagens e fermentações espontâneas que são as cervejas *Lambics*, produzidas na Bélgica. As cervejas *Ale* são produzidas pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O mosto cervejeiro é fermentado entre 18 e 25°C. Já as cervejas do tipo *Lager* são fermentadas pela espécie *Saccharomyces pastorianus* em um processo conduzido a uma temperatura de 4 e 15°C. Finalmente, a cerveja do estilo *Lambic* é obtida por fermentação espontânea, sendo o mosto colonizado por uma sucessão ecológica de leveduras selvagens e bactérias do ambiente (SOLIERI, 2020).

Após a fermentação, todos os tipos de cervejas passam por um processo de maturação em temperaturas próximas de 0°C para a sedimentação da levedura cervejeira tornando a bebida mais límpida para o consumo (WHITE e ZAINASHEFF, 2010). Na indústria, usa-se o processo de filtração por terra diatomácea, em que a cerveja pronta é filtrada. Logo depois, a cerveja é carbonatada, envasada em garrafas, latas ou barris de inox, pasteurizada, ficando pronta para o consumo (SENAI, 2014).

#### 1.5 Leveduras usadas na fabricação de cervejas *Ale*

As leveduras são fungos unicelulares que se reproduzem por brotamento e são as responsáveis pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, consumindo os açúcares fermentáveis e liberando álcool, dióxido carbônico, energia na forma de ATP e outros metabólitos (WHITE; ZAINASSHEF, 2020). As leveduras do tipo *Ale* (*S. cerevisiae*) são utilizadas pelas civilizações de forma empírica e despreziosa desde

a antiguidade na fabricação de alimentos e bebidas fermentadas como pão, vinho e destilados (PARAPOULI et.al., 2020).

Estes fungos também são conhecidos como leveduras de alta fermentação, pelo fato de a espuma presente durante o processo fermentativo, em tanques abertos, aparecer no topo do fermentador e conter grande número de células. Existe, hoje, uma grande variedade de linhagens deste tipo de levedura no mercado, importadas de países como Bélgica e EUA e até de novos fabricantes como a China. O produtor pode escolher entre leveduras que fornecerão perfis neutros, frutados, floculantes ou pouco floculantes, dentre outras características, para atender os quesitos da receita (WHITE; ZAINASSHEF, 2020). Ao escolher a levedura, o cervejeiro deve estar atento as principais características como atenuação, floculação e tolerância alcoólica, pois são características determinantes para que o produto final fique conforme o estilo desejado.

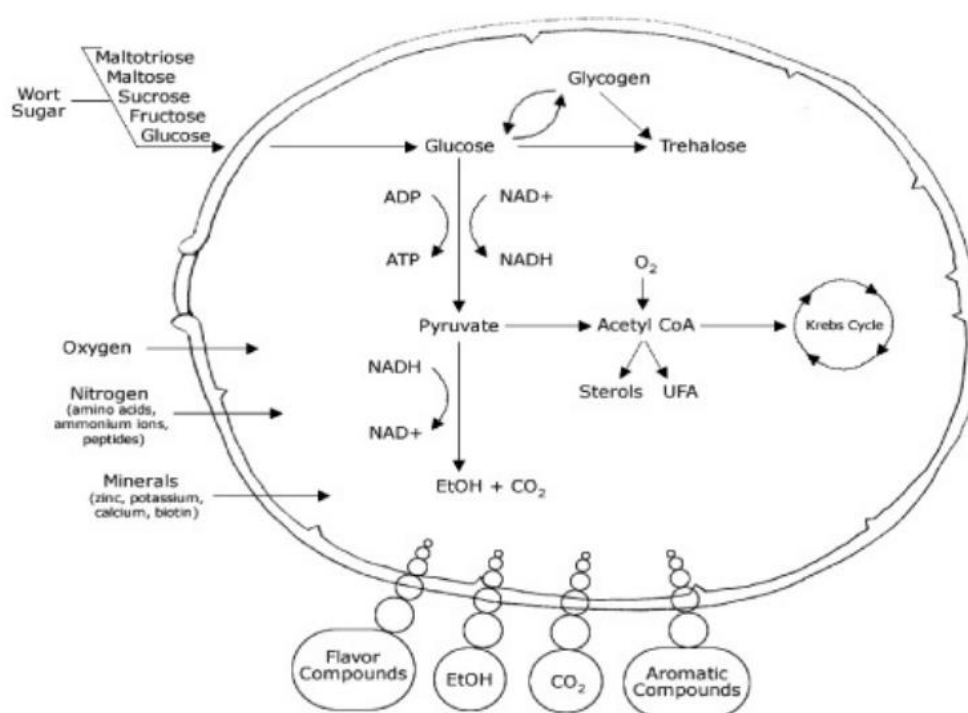
Ao utilizar uma levedura para fabricar uma cerveja, por exemplo, com 8% de ABV (Álcool por volume), o cervejeiro pode não conseguir essa quantidade de álcool se usar uma levedura mais sensível a este composto, ou que não seja uma levedura de média a alta atenuação. Usar uma levedura com perfil neutro e esperar um aroma frutado também seria um equívoco que levaria a uma decepção por parte do produto esperado, já que a produção de ésteres ficaria aquém do programado para aquela receita (SILVA, 2019).

## **1.6 Metabolismo das leveduras A/e no mosto cervejeiro**

O metabolismo das leveduras é influenciado por fatores físicos e químicos como a temperatura, pH, nutrientes e oxigênio. Na produção de cervejas deve-se observar dois objetivos no uso da levedura. O primeiro deles é a propagação, em que se deseja um aumento do número de células para o uso posterior na fabricação de um lote de cerveja e o segundo é a fermentação, onde a levedura será inoculada no mosto cervejeiro. Ao propagar leveduras, deve-se observar, dentre outras características, a injeção contínua de oxigênio com grande pureza medicinal, sendo por agitação no laboratório ou em escala piloto ou por injeção de oxigênio medicinal em propagadores industriais (SILVA, 2019).

Para produção de cerveja, as leveduras são inoculadas em mosto rico em açúcares de diversos tipos como: glicose, frutose, sacarose, maltose e maltotriose. Também compostos nitrogenados, lipídeos, minerais e íons metálicos estão presentes no mosto. Os carboidratos são originários do amido pré hidrolisado a partir de reações enzimáticas pelas amilases. Reações estas que acontecem na etapa da mostura. A composição do mosto e a sua qualidade impactará no produto final (WALKER; STEWART, 2016).

Neste contexto, a figura 6 apresenta um desenho esquemático do metabolismo da levedura que consome os açúcares do mosto produzindo, além de álcool e CO<sub>2</sub>, compostos de aroma.



**Figura 06:** Visão geral do metabolismo de *Saccharomyces cerevisiae* dos compostos mais importantes da bebida. **Fonte:** White; Zainasshef (2020).

Assim, as leveduras, quando inoculadas no mosto cervejeiro, utilizam de suas reservas nutricionais, bem como oxigênio inoculado, preparando, assim, suas membranas celulares para melhorar o fluxo de nutrientes do meio externo para o meio interno da célula. No mosto, a levedura utiliza os açúcares por ordem dos menos complexos como glicose, preferencialmente, para açúcares mais complexos como maltotriose, produzindo álcool e gás carbônico e vários metabólitos importantes que

influenciam nos sabores e aromas da bebida, como compostos de enxofre, carbonilas, ésteres e álcoois superiores (WHITE; ZAINASSHEF, 2020). Abaixo são descritos os principais compostos que influenciam no aroma e sabor da cerveja:

### *Ésteres*

São compostos orgânicos voláteis formados a partir de um ácido orgânico e um álcool. Como exemplo, podemos encontrar na cerveja o acetato de etila e o acetato de isoamila, dentre outros. Estes compostos são responsáveis pelos sabores e aromas frutados da cerveja lembrando bananas, maçãs, dentre outras frutas. O número de células viáveis de leveduras influencia na quantidade produzida destes compostos, assim como a quantidade de oxigênio dissolvido no mosto e a temperatura de fermentação.

### *Álcoois superiores*

Em uma fermentação adequada, respeitando todos os parâmetros como temperatura de fermentação e número de células, há maior formação em proporção de etanol, mas outros álcoois estarão presentes em maior ou menor concentração. São exemplos o álcool isoamílico, propanol, isobutanol, butanol, sendo estes compostos também conhecidos como álcoois superiores.

Estes álcoois possuem sabores semelhantes ao etanol, mas em grandes quantidades podem lembrar solvente, inviabilizando o produto final, já que o paladar é mais sensível a esses compostos. Isso ocorre devido à elevação da sensação térmica dando impressão de aquecimento ao paladar. Estes álcoois ainda são associados à tradicional “ressaca” e sua produção varia de acordo com as linhagens de leveduras utilizadas, temperaturas de fermentação ou com baixa quantidade de nitrogênio do mosto cervejeiro.

### *Diacetil*

Em quantidades elevadas, este composto pode lembrar sabores de manteiga e até oleoso na boca do consumidor. Isso ocorre porque o diacetil pertence ao grupo químico das cetonas que se assemelha muito ao composto 2,3-pentanodiona, tendo nível de percepção de 0,5 a 1,0 ppm e está associado a problemas de fermentação ou contaminação. Cervejas que entram na fase de maturação muito cedo podem fazer com que a levedura não reabsorva o composto formado durante a fermentação.

Lembrando que para alguns estilos de cervejas existem níveis de aceitação deste composto na bebida.

#### *Ácidos orgânicos*

Os ácidos orgânicos são responsáveis pela diminuição do pH da cerveja deixando-a mais ácida. São vários tipos de ácidos como acético, láctico, dentre outros, impactando não só o pH da cerveja, mas também seu aroma e sabor. Uma quantidade exagerada de ácidos pode ser um indicativo de contaminação por outros microrganismos, como as bactérias lácticas e acéticas.

#### *Compostos sulfurados*

Compostos a base de enxofre que são voláteis e são indesejáveis nas cervejas, pois quando presentes na bebida remetem a fósforo queimado ou vegetais cozidos. O Dimetil sulfeto (DMS) e o dióxido de enxofre são exemplos destes compostos. Eles também são formados na fermentação, contudo, podem ser provenientes do malte.

#### *Compostos Fenólicos*

Os compostos fenólicos estão associados aos aromas de cravo e/ou especiarias, mas em grandes quantidades podem lembrar aspecto medicinal, ou plástico. Em quantidades aceitáveis fazem parte das características esperadas em cervejas Belgas e cervejas de trigo. São compostos aromáticos e o principal composto fenólico produzido pelas leveduras é o 4-vinil guaiacol, produzidos a partir do ácido felúrico (WHITE; ZAINASSHEF, 2020).

### **1.7 Novas linhagens de leveduras para a fabricação de cervejas artesanais.**

As leveduras utilizadas atualmente para fabricação de cervejas foram selecionadas pelo homem por muitos anos em diversos processos de produção cervejeira. Produções que não eram descartadas pela sua qualidade, tendo leveduras inoculadas não de propósito, ou até mesmo recipientes usados contendo leveduras, fizeram com que esta seleção fosse benéfica para os cervejeiros atuais (WHITE; ZAINASSHEF, 2020).

Existem no mundo, até o presente momento, várias pesquisas relacionadas com a busca de novos microrganismos para fabricação de cervejas, tanto no meio

acadêmico, quando nas empresas, que desenvolvem este tipo de produto. Sabe-se que a busca de novas leveduras não é uma tarefa fácil, mas necessária para sair do senso comum dos estilos produzidos atualmente. Nas fermentações espontâneas são observadas a existência de leveduras capazes de fermentar cervejas juntamente com outros microrganismos como as bactérias e leveduras não-*Saccharomyces* (PETRUZZI et al., 2016).

Por vários séculos as pessoas produziram bebidas, como vinho, cerveja e hidromel, a partir da fermentação, sem conhecer o que estava por trás desse processo, além de não saber que os microrganismos responsáveis podem estar presentes nas matérias primas ou em recipientes usados para este fim. Esse processo enfim permitiu que as leveduras fossem selecionadas e que hoje haja no mercado um catálogo de leveduras utilizadas para cada receita ou para cada ocasião (SICARD; LEGRAS, 2011; CAPECE et al., 2018).

Atualmente, a busca se baseia em linhagens que não produzam compostos como sulfeto de hidrogênio, ácido sulfídrico ou gás sulfídrico ( $H_2S$ ) que em quantidades acima dos limiares de percepção dão aroma de ovo tornando o produto indesejável. No Brasil, nos últimos anos, novos estudos buscam isolar, identificar e utilizar leveduras provenientes de fermentações espontâneas de cachaça e outras bebidas alcoólicas (CHRISTOFOLETI-FURLAN e colab., 2020; MONTANDON, 2016).

Dos grupos de leveduras usadas nas fermentações de cervejas, a levedura Lager *S. pastorianus* é uma levedura híbrida entre as espécies *S. eubayanus* e *S. cerevisiae*. *S. pastorianus* não é encontrada em ambiente natural, apenas em fermentações conduzidas pelo homem (HITTINGER et al., 2018). Novas linhagens de *S. cerevisiae* e de outras espécies de *Saccharomyces* (por exemplo, *S. eubayanus*) estão conquistando destaque no processo de produção mundial de cerveja em decorrência de perfis fermentativos diferenciados, inovando a bebida em vários quesitos (SOLIERI, 2020).

## 2 JUSTIFICATIVA

De acordo com o anuário da cerveja do ano de 2020 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2020), o Brasil teve alta de 14,4% no número de registro de cervejarias em relação ao ano anterior, sendo também um ano em que todas as unidades de federação brasileira apresentam registro de pelo menos uma cervejaria artesanal. Isso significa um grande aumento de consumo deste tipo de produto.

Esta perspectiva de crescimento do setor e o grande aumento nos últimos dez anos do consumo de cervejas especiais têm entusiasmado os consumidores a conhecer sabores e novas percepções organolépticas. Neste contexto, é crescente a busca por novas linhagens de leveduras cervejeiras para o desenvolvimento de produtos com perfis sensoriais diferenciados, sendo as leveduras um dos principais agentes que produzem os compostos que conferem sabor e aroma a cerveja.

O Brasil possui uma imensa diversidade de fontes para a busca de novas linhagens de leveduras cervejeiras, seja nas fermentações artesanais (p.ex., cachaça), seja nos ecossistemas naturais. Tais leveduras podem apresentar características genéticas e fenotípicas que as diferenciam das linhagens cervejeiras comercializadas, principalmente em relação ao perfil de compostos de aroma produzidos e desempenho fermentativo, permitindo, assim, o desenvolvimento de novos produtos com alta qualidade sensorial.

Nessa perspectiva, uma tendência mundial é a busca pela identidade nacional na produção de cervejas, por meio da utilização de matérias-primas e leveduras obtidas no país de origem. Neste contexto, a seleção de novas linhagens de *S. cerevisiae* para o desenvolvimento de estilos e perfis brasileiros de cervejas torna-se necessário para atender a essa nova demanda do mercado. O desenvolvimento da identidade brasileira nas cervejas contribuirá significativamente para aumentar o espaço e o reconhecimento do país no setor cervejeiro nacional e mundial.

Nos estudos de Montandon (2016), duas linhagens de leveduras foram descritas como potenciais produtoras de cerveja dentre 99 isolados originários de vários locais da América do Sul. As duas leveduras potenciais foram isoladas de dornas de fermentação para a produção de cachaça no Brasil. Elas foram selecionadas quanto ao perfil fermentativo, formação de compostos e aromas e, por

fim, testes de aceitação em análise sensorial. Essas leveduras serão testadas neste estudo para a produção industrial de cervejas especiais do tipo *A/e*.



### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Produzir cervejas especiais em escala piloto e industrial utilizando linhagens de *S. cerevisiae* isoladas de dornas de fermentação de cachaça.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Produzir uma cerveja do estilo belga utilizando as linhagens de leveduras teste e uma linhagem de levedura comercial em lotes de 20 litros;
- Realizar a análise sensorial das cervejas produzidas;
- Produzir cerveja em escala industrial com a linhagem selecionada que apresentar os melhores resultados nos testes em escala piloto;
- Determinar, por cromatografia líquida e gasosa, o consumo de açúcares no mosto, bem como a produção de etanol, glicerol, ácidos orgânicos e compostos aromáticos;
- Comparar o perfil aromático quantitativo obtido por cromatografia gasosa e o perfil sensorial das cervejas que foram produzidas pelas leveduras comerciais, com aquelas que foram produzidas com as leveduras indígenas.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Leveduras

Todas as leveduras testadas neste trabalho foram previamente identificadas como *Saccharomyces cerevisiae* por meio de sequenciamento da região D1/D2 da subunidade maior do gene do RNA ribossomal (MONTANDON, 2016). A linhagem comercial de levedura M41 da empresa Mangrove foi utilizada como controle neste estudo por apresentar perfil sensorial semelhante aos das leveduras usadas no presente trabalho. As informações sobre o trabalho realizado para a seleção dessas duas linhagens estão descritas em Montandon (2016). As duas linhagens de leveduras indígenas empregadas nesta pesquisa fazem parte da Coleção de Microrganismos e Células da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e foram isoladas de duas regiões do Brasil em dornas de mosto de cachaça.

### 4.2 Preparo e inóculo das leveduras:

O processo de propagação das leveduras foi realizado seguindo o mesmo padrão para a escala piloto e industrial mudando somente a proporção das propagações e a quantidade de células viáveis (UFC) que foram inoculadas. Para reativar as células congeladas, o processo se iniciou 6 dias antes do inóculo na cerveja.

O meio ágar YM (extrato de levedura 0,3%, peptona bacteriológica 0,5%, glicose 1% e ágar 2% e extrato de malte 0,3%) foi usado para o crescimento das células em 3 placas de Petri. Estas foram incubadas por 48 horas em estufa BOD a 25°C. Após este período, todo o conteúdo celular de cada placa foi retirado com a ajuda de uma alça e inoculado em um frasco Erlenmeyer contendo 20 ml de meio de propagação.

Os frascos foram incubados a 25°C em agitação de 100 r.p.m. Após 24h, o conteúdo foi vertido em frasco contendo 180 ml de meio de propagação e incubado nas mesmas condições descritas anteriormente. Posteriormente, o conteúdo do frasco foi vertido em outro frasco com 1,8 litros de meio de propagação, e incubado como anteriormente.

Finalmente, o volume resultante de 2 litros foi dividido em dois frascos contendo 5 litros de meio de propagação cada, e estes incubados por 24 horas. Com este procedimento, foi obtido um total de 10 litros de inoculo contendo cerca de 11.000 bilhões de células. O número de células foi calculado através do software *Beersmith3* e confirmado pela calculadora cervejeira *Brewers Friend*, a qual leva em consideração a quantidade inicial de açúcares do mosto e o volume final de cerveja. Estes tipos de calculadoras levam em consideração critérios avaliados em estudos prévios sobre a produção com mínima geração de *off flavors* na cerveja (VERBELEN et al., 2009).

### **4.3 Contagem de células**

A viabilidade celular foi medida usando coloração por azul de metileno, de acordo com *EBC Analytic Methods* (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 2004). Em todos os experimentos referentes a produções de cerveja, os inóculos utilizados apresentaram mais de 99% de viabilidade. Para realizar a contagem de células e testes de viabilidade foi feito uma diluição de 100 vezes do meio com leveduras para coloração com azul de metileno. Após diluição adequada, as células foram contadas usando sempre a unidade de medida cel/ml na câmara de Neubauer.

### **4.4 Produção de cerveja em escala piloto**

Para a realização do presente estudo as cervejas foram produzidas em triplicata de 60 litros de mosto dividido em 3 baldes fermentadores onde cada um deles recebeu uma linhagem de levedura (comercial e as duas leveduras testes). As cervejas foram produzidas nas instalações do Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos do ICB (UFMG) utilizando o método de *brewstand* (Figura 7) onde as painéis estão dispostas em degraus para facilitar a transferência de líquidos com ajuda da gravidade, não necessitando de bombas elétricas para tal fim.



**Figura 07:** Método usado para fabricação de cerveja em escala piloto (*brewstand*).

**Fonte:** <https://www.indupropil.com.br/brewstand-cozinha-100-litros.html>

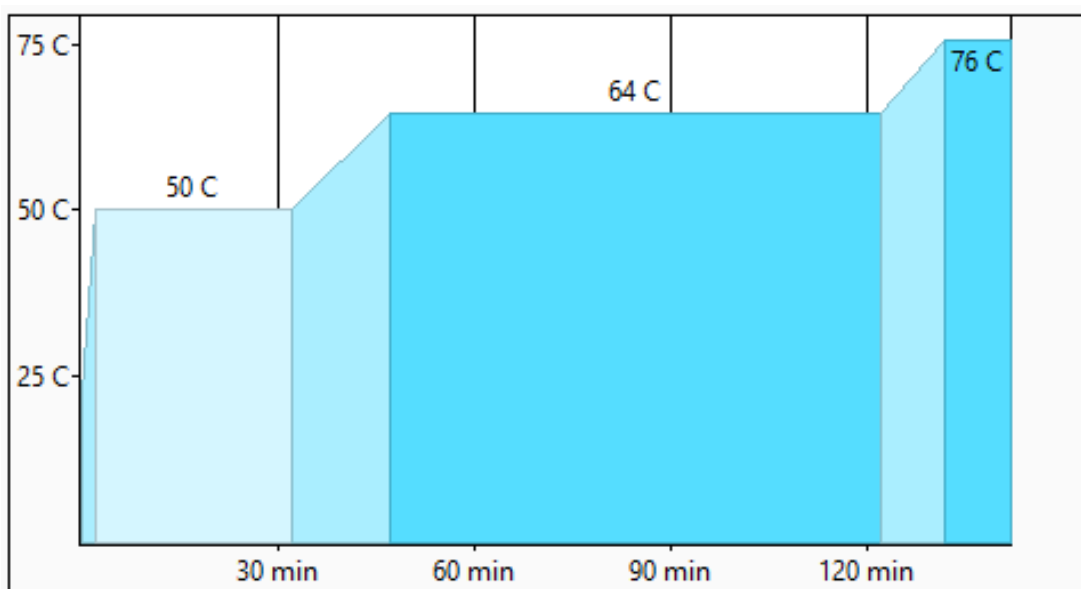
A escolha do estilo de cerveja produzida foi baseada em um perfil com pouco uso de ingredientes que se sobressaíam no final da cerveja pronta, como lúpulos em excesso ou maltes com muitas dextrinas. Uma cerveja mais complexa inviabilizaria a análise sensorial no quesito aromático da levedura, sendo o estilo *Belgian Pale Ale* o mais conveniente e interessante para esta situação.

Neste cenário a receita foi elaborada utilizando o *software Beersmith 3* (Anexos 4 e 5) e elaborada com base na descrição do guia de estilos *Beer Judge Certification Program (BJCP)*, onde são descritos e catalogados vários estilos de cervejas do mundo todo. Para cada produção foram feitos 60 litros de mosto que foram divididos em 3 fermentadores de 20 litros cada. Para a base de maltes foram utilizados 4,6 kg de malte pilsen (Malteria agrária), 4,6 kg de malte de trigo (Malteria agrária), 3,0 kg de malte caraamber, 1,45 kg de malte Melanoidina (Weyermann), 37 g de Lúpulo Hallertau Magnum (LNF) e 94 g de lúpulo Willamette (LNF).

Para a produção do mosto cervejeiro, os grãos inicialmente foram moídos e adicionados em 40 litros de água à 54°C. O mosto foi mantido a 50°C por 30 minutos. Esta temperatura é usada em uma rampa denominada parada proteica com temperatura entre 45-50°C que auxilia na etapa de clarificação do mosto para cervejas que utilizam grãos ricos em proteínas, como o trigo. Logo depois, houve o aumento da temperatura para 65°C da mistura por 60 minutos e o amido foi convertido em

açúcares fermentescíveis. Após este tempo, ocorreu outro aquecimento elevando a temperatura até 76°C, onde as enzimas foram inativadas no processo conhecido como *mash out* (Figura 08).

Após a inativação das enzimas, foi feita a recirculação do mosto cervejeiro com auxílio de uma bomba, bem como a lavagem com 64 litros de água à 76°C. Esta etapa é chamada de clarificação e tem o objetivo de deixar o mosto o mais livre de resíduos em suspensão possível. Posteriormente, o mosto foi transferido para uma panela de fervura onde foram adicionados 25 gramas de lúpulos *Harletau magnum* e fervido por 60 minutos. As temperaturas utilizadas foram escolhidas com intuito de favorecer enzimas que, ao final, deixam a cerveja mais leve em comparação com outros mostos mais encorpadas.



**Figura 08:** Rampas de mistura usadas na produção de cerveja em escala piloto. **Fonte:** Beesmith3.

A etapa da fervura tem como objetivo isomerizar os alfa-ácidos presentes no lúpulo dando amargor, diminuir a quantidade de microrganismos e evaporar substâncias que não são desejáveis na bebida. Após a fervura o líquido foi resfriado e separado das proteínas coaguladas por decantação. Depois de alcançar a temperatura de 18°C, o mosto foi colocado em 3 baldes alimentícios de 20 litros cada, devidamente sanitizados com iodo na concentração de 25mg/l (SILVA, 2019). O inóculo inicial para cada balde foi de 168 bilhões de células (WHITE; ZAINASSHEF, 2020).

Posteriormente ao inóculo, o mosto e a levedura foram mantidos a 18°C em uma estufa BOD por 7 dias. O término da fermentação foi estabelecido após três medidas iguais da densidade em °P por três dias seguidos realizadas por meio de um densímetro calibrado a 20°C. As amostras de mosto para os devidos testes físico-químicos foram retiradas em tubos Falcon 50 ml a cada 24 horas e congeladas em freezer horizontal a -20°C.

A maturação da cerveja teve o objetivo de melhorar o perfil dos compostos aromáticos produzidos e decantar as leveduras ao término da fermentação. Este processo foi feito em estufa BOD a uma temperatura de 2°C. O envase da cerveja foi realizado em garrafas de cor âmbar de volume 600 ml, limpas e sanitizadas com iodo 2%. A adição de CO<sub>2</sub> foi feita por um processo de *priming*, em que uma quantidade de açúcar de aproximadamente 5 g/l é adicionada na garrafa após o término da maturação, ocorrendo um processo de refermentação por aproximadamente 10 dias a temperatura ambiente. Após este período de refermentação, as garrafas foram armazenadas em geladeira em temperatura de aproximadamente 4°C para posterior análise sensorial.

#### **4.5 Produção em escala Industrial**

As produções foram realizadas na cozinha industrial da cervejaria LOBA, que está instalada em uma área de cinco mil metros quadrados dentro do Hotel Fazenda da Chácara na fazenda Guarará, em Santana dos Montes – MG. A produção foi feita utilizando o método de cozinha tribloco composto de três “painéis” (Figura 09), levando em consideração os mesmos processos anteriores e obedecendo às mesmas proporções dos ingredientes já relatados.

Para cada produção foram feitos 1500 litros de mosto para cada fermentador, utilizando uma levedura comercial M41 como controle e a levedura UFMG-CM-Y228, que foi escolhida por obter as melhores notas na análise sensorial no teste de preferência. Para a base de maltes foi utilizado 130 kg de malte pilsen (Malteria agrária), 130 kg de malte de trigo (Malteria agrária), 53 kg caraamber, 26 kg de melanoidina (Weyermann), 710 g de lúpulo Hallertau Magnum(LNF) e 1,8 kg de Willamette.

Para a produção do mosto cervejeiro, os grãos inicialmente foram moídos em um moedor industrial e adicionados em 891 litros de água à 54°C. O mosto foi mantido a 50°C por 30 minutos. Após esta etapa, a mistura teve sua temperatura aumentada para 65°C por 60 minutos onde o amido foi convertido em açúcares fermentescíveis. Após este tempo mais um aquecimento foi feito desta vez até a temperatura de 76°C onde as enzimas (amilases) foram inativadas.

Posteriormente à inativação das enzimas, o mosto e o bagaço de malte foram transferidos para uma segunda panela denominada tina de clarificação composta de um fundo falso. Nesta panela, parte do mosto foi extraída por uma bomba na parte inferior da panela e deslocado para a parte superior por um tempo de aproximadamente 20 minutos, etapa conhecida como recirculação do mosto cervejeiro. A filtração ou clarificação tem o objetivo de “limpar” o mosto de partículas em suspensão.

Após a clarificação ocorreu a lavagem dos açúcares que ainda ficaram no bagaço do malte. Nesta etapa 1100 litros de água à uma temperatura de 76°C foi recirculada na panela de clarificação e bombeada para a panela de fervura onde o mosto foi fervido juntamente com a quantidade de lúpulos adequados para esta produção. As temperaturas utilizadas foram escolhidas com intuito de favorecer enzimas que deixam no final a cerveja mais leve em comparação com outros estilos no quesito corpo sensorial.



**Figura 09:** Painéis utilizados para mistura dos grãos na produção industrial da cerveja. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

O resfriamento se deu por meio de resfriadores industriais (figura 10), onde a água resfriada com líquido refrigerante, o qual é composto por uma mistura de álcool e água, entra em um lado do resfriador sem contato direto com o mosto. Após resfriado, o mosto foi bombeado para os fermentadores industriais de aço inox (figura 11). O pré inóculo das leveduras utilizadas para a fermentação foi preparado, como descrito anteriormente.

A levedura foi inoculada em uma concentração de 11.000 bilhões de células em 1500 litros de mosto. Após o inóculo, o mosto em fermentação foi mantido a 18°C por 6 dias. Nesta etapa ocorreu o consumo dos açúcares sendo a fermentação considerada finalizada após três medidas com valores constantes, que geralmente ocorreu após o 6º dia de fermentação. Posteriormente ao inóculo da levedura, foram retiradas alíquotas de 50 ml de mosto e adicionadas em tubos tipo Falcon a cada 24 horas e congeladas em freezer horizontal. Estas amostras foram utilizadas para medir os metabolitos presentes na cerveja, como quantidade de álcool, ésteres e fenóis por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Logo após a finalização da fermentação, a temperatura do fermentador foi diminuída para 0°C para maturação da cerveja. O processo de maturação durou 5 dias. Nessa etapa ocorreu a decantação das leveduras suspensas e de proteínas de alto peso molecular. Na sequência, as cervejas foram então envasadas com a utilização de garrafas de cor âmbar de volume 600 ml em uma envasadora industrial. As garrafas foram previamente sanitizadas pelo sistema CIP (*clean in lace*).

O gás foi inserido na cerveja por um processo de carbonatação forçada que consiste basicamente em introduzir gás carbônico na cerveja dentro de um barril de inox usando um cilindro de CO<sub>2</sub>, válvulas, mangueiras e conectores especiais para este fim até. É importante destacar que para cada estilo de cerveja existe um nível tabelado de CO<sub>2</sub> desejado e a que a unidade de medida utilizada é o volume médio de CO<sub>2</sub>. Na cerveja produzida foram utilizados 2 volumes de CO<sub>2</sub>, sendo essa medida realizada com um regulador de pressão. Após a carbonatação, a cerveja foi transferida para garrafas de 600 ml, e estas armazenadas em *freezer*, em temperatura de aproximadamente 4°C para posterior análise sensorial.





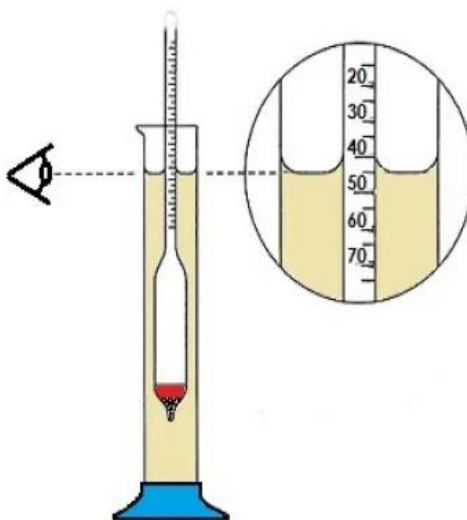
**Figura 10:** Resfriador Industrial.  
**Fonte:** Elaborada pelo autor.



**Figura 11:** Tanques fermentadores de 2.000 litros da Cervejaria Loba, Santana dos Montes, MG. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

#### 4.6 Acompanhamento da gravidade no decorrer da fermentação

A quantidade de açúcares totais foi medida em alíquotas de 200 ml/dia pelo uso do densímetro (TECHNICAL COMMITTEE, 2011) (Figura 12). Sempre se usa o densímetro com auxílio de um termômetro, pois a sua graduação está calibrada para ser medida a 20°C.



**Figura 12:** Figura esquemática de um densímetro e sua utilização. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

Assim, quando a leitura se torna constante, é possível afirmar que a fermentação terminou. Geralmente, para cervejas *Ale* o tempo de término da fermentação é em média de 5 dias, dependendo da quantidade de açúcares presentes no mosto.

#### 4.7 Análises cromatográficas

##### 4.7.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

O método de Cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizado para mensurar quantidades relativas de açúcares, etanol, ácidos orgânicos, e glicerol a partir de amostras de mosto cervejeiro e de cerveja pronta. Neste contexto, alíquotas de 1 mL do mosto foram filtradas primeiramente em membrana de acetato celulose de 0,22  $\mu\text{m}$  e diâmetro 13 mm (Sartorius).

As amostras foram analisadas de acordo com metodologia descrita por Montandon (2016) em dois detectores acoplados a um cromatógrafo líquido Shimadzu (Shimadzu, Japão), os detectores tem índice de refração RID 10-A e um detector UV-visível. Os conteúdos de ácido acético, açúcares, etanol, glicerol do mosto e das amostras de cerveja pronta dos ensaios fermentativos foram analisados por Cromatografia líquida de alta eficiência. As condições foram as seguintes: coluna Supelcogel™ C-610H HPLC Column (30 cm x 7,8 mm) (Sigma-Aldrich), conservada à temperatura de 45°C; volume de injeção de 20 µl; detector de índice de refração RID 10-A; fase móvel H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mM e fluxo de 0,6 mL.minuto<sup>-1</sup>.

#### 4.7.2 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas

A cromatografia gasosa por microextração em fase sólida por *headspace* e detecção por espectrometria de massas (HS-SPME-GC/FID) foi utilizada na caracterização do perfil de compostos voláteis originados durante fermentação. As análises foram feitas como descrito por Li e colaboradores (2005). Foi empregado o cromatógrafo gasoso com espectrômetro de massas acoplado Shimadzu QP2010 (Shimadzu, Japão) e coluna capilar HP INNOWAX 60m x 0,25m a temperatura de 40°C. As alíquotas das amostras foram preparadas em *vials* de 20 mL, com septo de silicone. Cinco mL da amostra foram separadas nos *vials* e 1,5 g de NaCl e 25 µL de 5-nonanol 0,001% (padrão interno) foram inseridos. Essa mistura foi incubada a 40°C por 30 minutos para volatilização dos compostos até o ponto de equilíbrio entre os compostos voláteis no líquido e na fase gasosa.

O septo foi perfurado por uma agulha e a fibra de poliacrilato para SPME (*Solid Phase Micro Extraction*) foi colocada no *headspace* por 30 minutos, para permitir adsorção dos compostos voláteis da amostra. A fibra foi, então, injetada no cromatógrafo gasoso com fluxo de gás hélio a 1 mL/min a temperatura de 250°C e exposta por 5 minutos, para permitir dessorção completa dos compostos voláteis. Foi obtida aleatoriamente uma lista de compostos voláteis em maior quantidade para cada amostra analisada a partir dos cromatogramas obtidos. Na sequência, uma matriz de frequência foi construída para cada brassagem individual a partir dos compostos encontrados nas amostras.

Uma lista de compostos voláteis mais relevantes para cerveja (tabela 1) foi determinada de acordo com literatura. Foi possível constatar a presença ou a ausência

dos compostos relevantes nas amostras de cervejas. A partir da área sob o pico dos compostos voláteis de interesse (tabela 1) e a área sob o pico do padrão interno 5-nonanol em cada amostra, foram determinadas as quantidades relativas destes compostos. Assim sendo, foi possível, além de determinar presença e ausência dos compostos nas amostras, comparar as quantidades relativas entre os mesmos. As informações sobre os compostos voláteis e os descritores sensoriais foram obtidas por meio de consulato ao *PubChem*, *The Good Scents Company* e *Flavor and Extract Manufacturers Associations* (<https://www.femaflavor.org/>).

#### 4.8 Análise sensorial

Para avaliar as propriedades sensoriais das bebidas produzidas foram utilizados os testes de aceitação, intenção de compra e ordenação (MINIM, 2010; DUTCOSCKY, 2011). Estes testes foram realizados com no mínimo 48 provadores para a cerveja produzida em escala piloto e 28 para escala industrial. Os provadores utilizaram mesas de provas individuais e, receberam a cerveja na temperatura de 4°C, sob luz branca, no período da manhã e da tarde. Foi utilizado o delineamento completo, no qual, todos os provadores receberam todas as amostras, de maneira aleatória, balanceada, em recipientes de plástico transparente, inodoro, incolor e codificados (MACFIE et al., 1989).

Antes dos testes sensoriais, os provadores receberam e assinaram o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, anexo 2), além de preencherem um questionário semiestruturado, a fim de traçar um perfil quanto aos aspectos de sexo, idade, escolaridade, profissão, renda, saúde e frequência de consumo das bebidas (anexo 3). Os provadores fizeram os testes para aceitação, aroma, aparência (cor), textura, sabor e impressão global, utilizando de uma escala hedônica (processo de análise de preferência por um produto por avaliação dos consumidores) estruturada de 7 pontos, no qual o número 1 refere-se a “desgostei extremamente” e o número 7 “gostei extremamente” (anexo 1).

Também foi realizado o teste de intenção de compra, utilizando-se de uma escala hedônica de 5 pontos, onde o número 1 correspondia a “certamente não compraria” e o número 5 “certamente compraria” (anexo 1). Também, os provadores

puderam organizar as amostras de acordo com as que mais gostaram (MINIM, 2010; DUTCOSCKY, 2011).

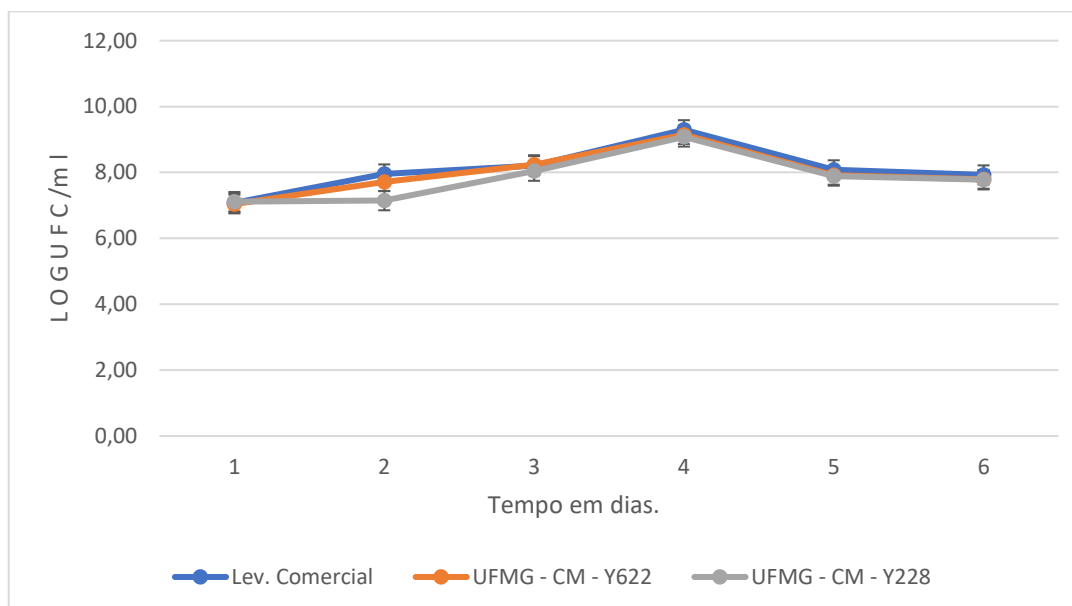
Para avaliar qual a amostra foi a preferida pelos avaliadores referentes às leveduras utilizadas na escala piloto, uma ficha foi entregue com 3 espaços onde o avaliador deveria marcar da esquerda para direita o código referente à amostra preferida para a de menor preferência (anexo 1) (MINIM, 2010; DUTCOSCKY, 2011). O experimento foi conduzido em parceria com a Loja de Insumos BHBrew, situada na cidade de Contagem-MG.

Os participantes foram clientes que comumente compram insumos para a produção própria e caseira de cerveja artesanal. Os provadores foram abordados no momento em que faziam compras na loja. Em decorrência da pandemia, esses testes não foram feitos nos laboratórios da UFMG. Isto dificultou também o recrutamento de maior número de provadores. O trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Pró-Reitora de Pesquisa da UFMG e aprovado sob o n° de registro 79241317.3.0000.5149.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação do número de células durante a fermentação

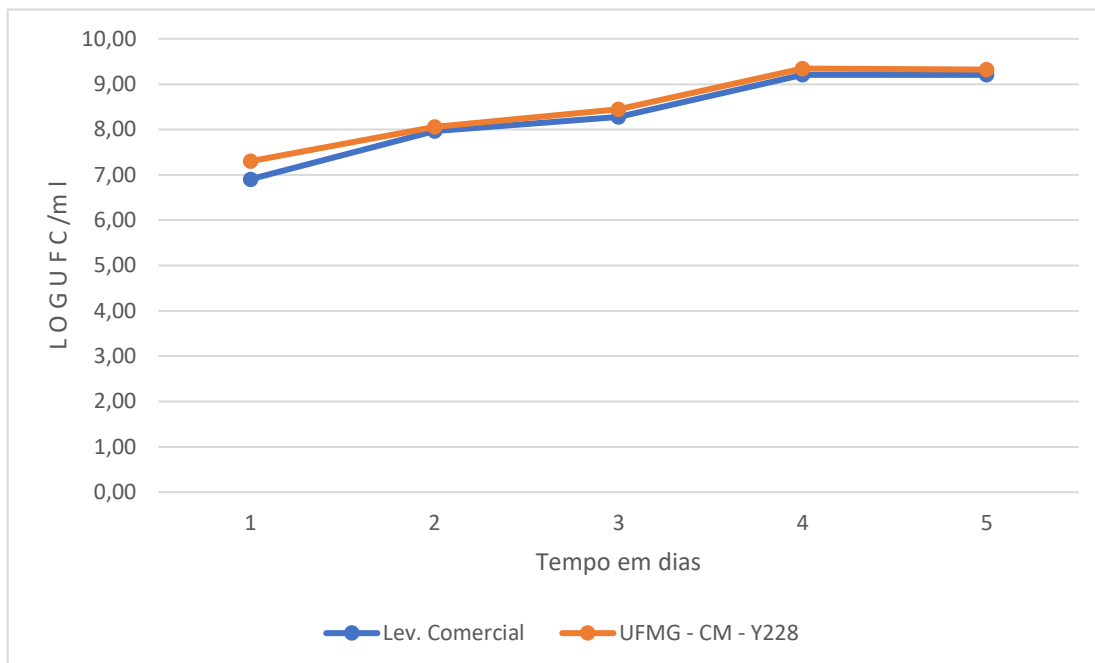
As figuras 13 e 14 mostram o número de células inoculadas no início da fermentação e o seu crescimento durante os seis dias deste processo. Após o sexto dia, o valor da densidade se estabilizou, sendo confirmado o final da fermentação. A figura 13 mostra a multiplicação celular da levedura comercial e das duas linhagens estudadas UFMG-CM-Y228 e UFMG-CM-Y622. Essa etapa foi acompanhada na produção de cerveja em escala piloto.



**Figura 13:** Crescimento celular nos baldes de fermentação das linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228 e Y622) durante a produção da cerveja em escala piloto. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

Nas figuras 13 e 14 pode-se observar que tanto na indústria quanto na escala piloto, entre os dias 1 e 3 ocorre crescimento de aproximadamente 10 vezes das leveduras, mostrando que as células estavam em processo de adaptação ao mosto (fase lag). Assim, entre os dias 3 e 4 ocorreu um maior aumento no número de células (fase exponencial de crescimento celular). Após este período, as células entram em fase estacionária, onde o crescimento é baixo em decorrência da diminuição de nutrientes que foram consumidos, e isto ocorreu entre os dias 4 e 6 para as linhagens testadas. Após este período, o número de leveduras em suspensão começa a diminuir. A figura 14 apresenta somente o crescimento da levedura comercial e da

levedura UFMG-CM-Y228, pelo fato dessa linhagem ter apresentado melhores resultados nos testes de aceitação e de preferência realizados em escala piloto.



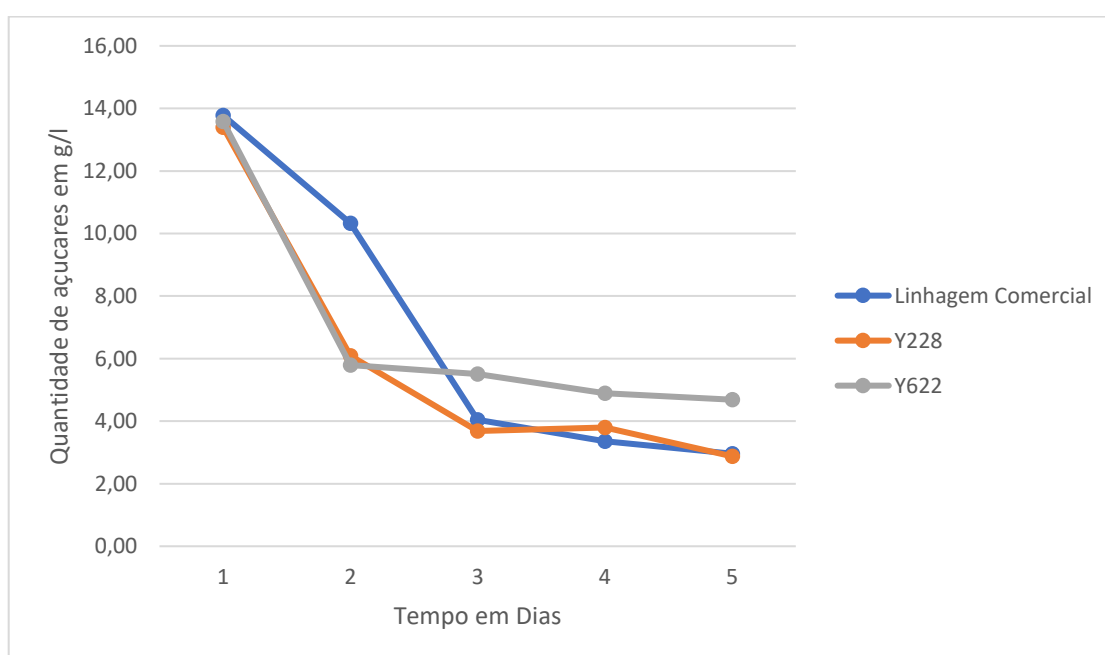
**Figura 14:** Crescimento celular na fermentação das linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial e UFMG-CM-Y228) durante a produção de cerveja em escala industrial. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

É importante destacar que existem critérios para se conduzir uma fermentação ótima, com mínima formação possível de compostos como ésteres ou álcoois superiores em grandes quantidades, que dariam efeitos negativos para a cerveja (VERBELEN et al, 2009). Sendo assim, fabricantes de leveduras como a empresa Fermentis e Mangrove sugerem que para uma boa fermentação, o ideal é que o inóculo contenha uma quantidade de pelo menos 750 milhões de células de levedura para cerveja do tipo *Ale* para cada 1 ml por 1°Plato, e o dobro deste valor para cervejas *Lager*.

Para quantidades muito menores de células inoculadas a fermentação pode ser mais lenta, além de gerar excesso de diacetil, álcoois superiores e ésteres. Para um número muito maior de células, a fermentação pode acarretar uma baixa produção de ésteres, fermentações muito rápidas e cervejas pouco encorpadas. Dessa forma, o inóculo inicial utilizado no presente trabalho foi condizente com estas orientações (SENAI, 2014).

## 5.2 Medidas da densidade e produção de álcool e pH

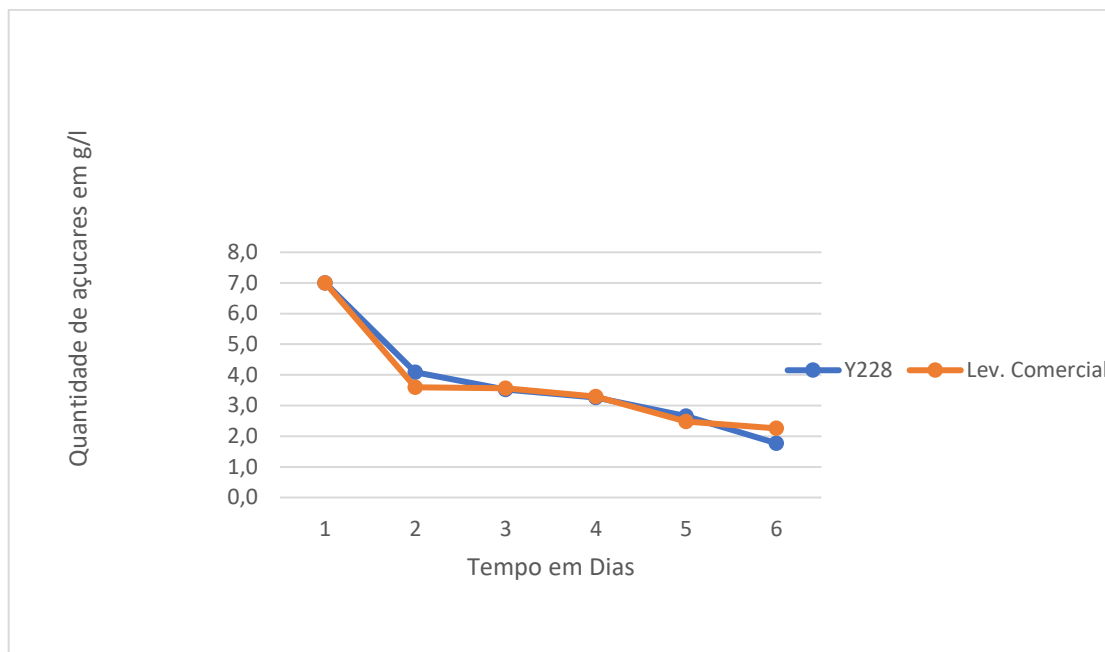
Durante seis dias foram coletadas amostras de 200 ml onde foram medidos com auxílio de um densímetro em graus Plato ( $^{\circ}\text{P}$ ) a quantidade de açúcares totais, para acompanhar a fermentação até o seu término. A figura 15 mostra o consumo de açúcares durante a produção da cerveja em escala piloto pelas linhagens de leveduras testadas. De acordo com os dados, a levedura comercial M41 consumiu 78,8% dos açúcares totais, enquanto as leveduras UFMG-CM-Y228 e UFMG-CM-Y622 consumiram respectivamente 79,9% e 66% destes açúcares.



**Figura 15:** Consumo de açúcares pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial e UFMG-CM-Y228 e 622) durante a produção da cerveja em escala piloto. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

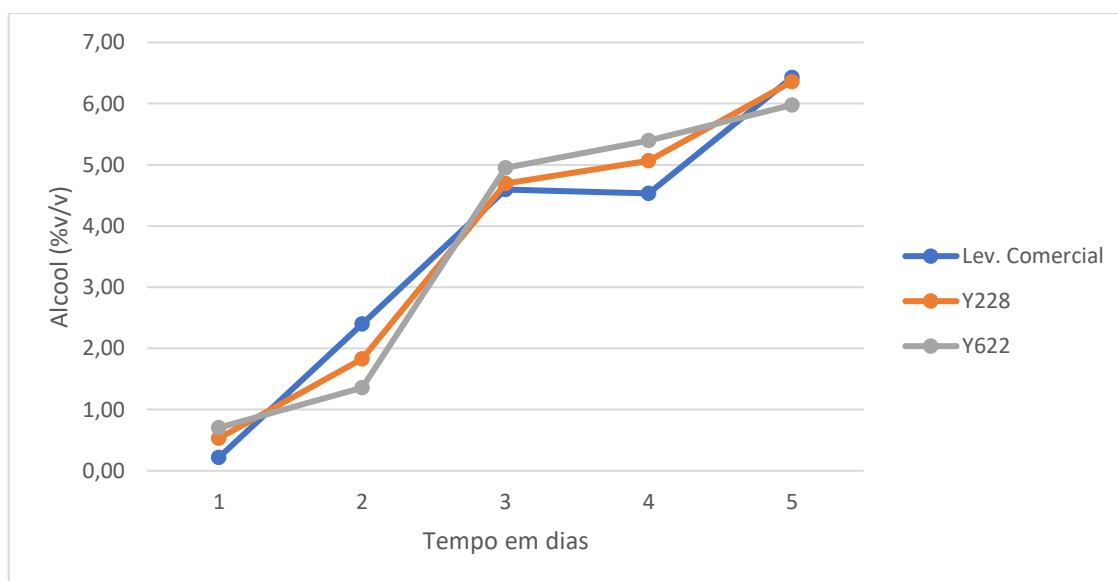
A figura 16 mostra o consumo de açúcares na escala industrial pelas leveduras. De acordo com os dados a levedura comercial M41 consumiu 67,4% dos açúcares totais, enquanto a levedura UFMG-CM-Y228 consumiu 74,28%. As pequenas diferenças entre o consumo de açúcares na escala piloto e na escala industrial podem estar associadas à diferença dos volumes produzidos. Em escala piloto, as leveduras não estão submetidas a pressões hidrostáticas elevadas, ao contrário do que acontece nos tanques cilindro cônicos utilizados na produção da cerveja em escala industrial. Quanto mais alto e vertical o tanque, mais rápida é a fermentação, devido a dinâmica dos fluidos do cone para o centro do tanque.





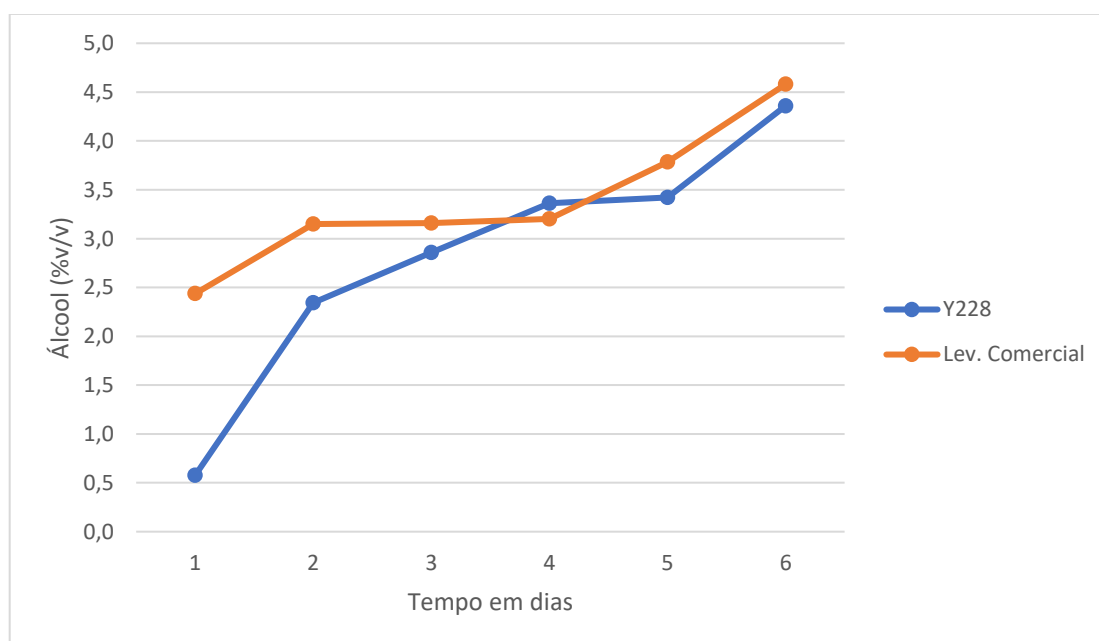
**Figura 16:** Consumo de açúcares pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial e UFMG-Cm-Y228) durante a produção de cerveja em escala industrial. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

A figura 17 mostra que a produção de álcool ocorreu em quantidades muito próximas para as leveduras testadas na escala piloto. Os valores finais foram de 6,4% para a levedura comercial, 6,36% para a linhagem UFMG-CM-Y228 e 5,9% a UFMG-CM-Y622.



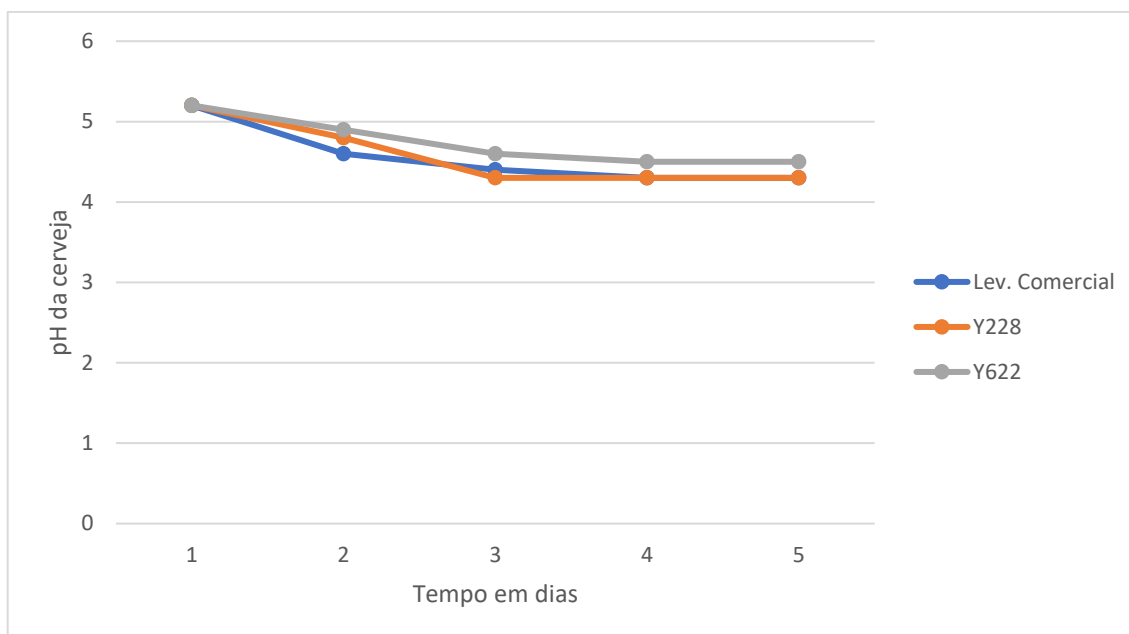
**Figura 17:** Produção de álcool pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial, UFMG-Cm-Y228 e UFMG-CM-Y662) durante a produção de cerveja em escala piloto. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

A figura 18 mostra que a formação de álcool ocorreu em quantidades semelhantes para as leveduras testadas na escala industrial. As linhagens M41 e UFMG-CM-Y228 produziram respectivamente 4,6% e 4,4% de álcool. No entanto este menor valor em relação a escala piloto ocorreu em decorrência de ajustes relacionados ao volume das produções diárias da cervejaria. Como a cervejaria trabalha com metas estipuladas foi preciso diminuir a quantidade de açúcares fermentáveis em quase metade da concentração para um aumento no volume de produção. Apesar da diferença entre as escalas a quantidade de álcool produzida está dentro do padrão para os estilos belgas de cervejas produzidos (GATZA et al., 2015).



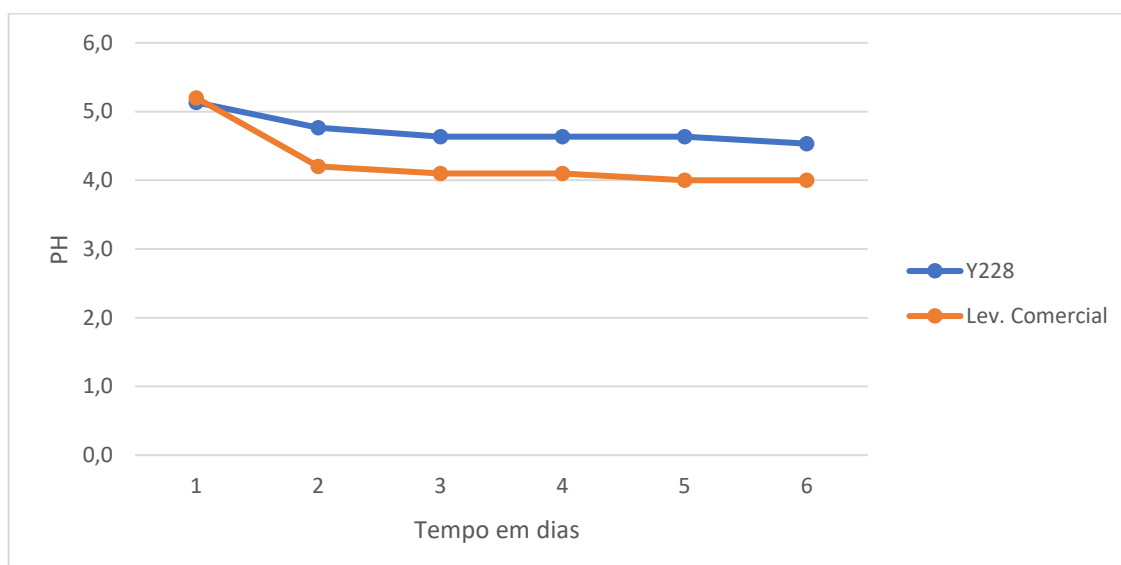
**Figura 18:** Produção de álcool pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial e UFMG-Cm-Y228) durante a produção da cerveja em escala piloto. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

O pH do mosto diminuiu durante a fermentação, indicando a produção de ácidos orgânicos na cerveja. Isto pode ser observado nas figuras 19 e 20. O pH diminuiu tanto na produção da cerveja na escala piloto quanto na industrial.



**Figura 19:** pH da cerveja durante a fermentação pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228 e 622) durante a produção da cerveja em escala piloto. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

Durante a fermentação a levedura produz diferentes níveis de ácidos orgânicos que contribuem para baixar o pH da cerveja o que pode ser observado na figura 20. Ácido láctico, acético, butírico e ácido cáprico (Tabela 1) são alguns exemplos.



**Figura 20:** Variação do pH da cerveja durante a fermentação pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228) em escala industrial. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

### 5.3 Análises físico-químicas das cervejas em escala industrial

As análises físico-químicas foram feitas apenas para as cervejas produzidas em escala industrial. No perfil de compostos voláteis da cerveja produzida na cervejaria em escala industrial, as leveduras comerciais M41 e UFMG-CM-Y228 produziram compostos de aroma essenciais para a bebida. Os dados da tabela 1 mostram a produção de álcoois superiores, ésteres e ácidos pelas duas leveduras. A produção de álcool superior pelas duas linhagens foi proporcionalmente igual. A produção de ésteres ocorreu em maior quantidade com a levedura indígena do que com a comercial. Esta linhagem indígena foi a que teve a cerveja escolhida nos testes sensoriais de preferência das bebidas produzidas em escala piloto. Isto pode estar relacionado a maior quantidade de ésteres produzidos por esta linhagem.

**Tabela 1.** Concentração relativa de compostos voláteis avaliados pela técnica cromatografia gasosa e espectrometria de massas relacionados ao aroma e sabor das cervejas produzidas com a levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* M41 e *S. cerevisiae* UFMG-CM-Y228 em escala industrial

| Compostos                                   | Atributo sensorial                          | M41  | UFMG 228 |
|---|---|------|----------|
| <b>Álcoóis superiores</b>                   |   |      |          |
| 1-Butanol                                   | Frutado, Álcool                             | --   | --       |
| 1-Decanol                                   | Odor floral e frutado                       | 1,9  | 0,6      |
| 2-Feniletanol                               | Álcool, Frutado, Mel, Rosas, Vinho          | ---  | 12,9     |
| 2-Metil butanol (álcool amílico ativo)      | Álcool, tostado, frutado, solvente          | 1,7  | --       |
| 2-Metil propanol (álcool isobutilíco)       | Vínico, Amargo, maçã, cacau                 | --   | 0,5      |
| 3-Metil butanol (Álcool isoamílico)         | Rosas, adocicado, perfumado, queimado       | 8,1  | --       |
| <b>Ésteres</b>                              |   |      |          |
| Acetato de etila                            | Solvente, frutas, adocicado                 | 5    | 1,7      |
| Acetato de feniletila (2-feniletil acetato) | Flores, mel, rosa                           | 7,1  | 10,8     |
| Acetato de isoamila (acetato de isopentila) | Banana, maçã, solvente, esterificado        | 6,2  | 3,2      |
| Decanoato de etila                          | Conhaque, uvas, pêra                        | 6,0  | 9,4      |
| Ftalato de dietila                          | Inodoro                                     | 10,1 | --       |
| Hexanoato de etila (Etil caproato)          | Conhaque, fruta madura, abacaxi, chiclete   | --   | 1,1      |
| Ocatanoato de etila (Etil caprilato)        | Damasco, conhaque, abacaxi, floral, gordura | --   | 6,9      |
| <b>Ácidos</b>                               |   |      |          |
| Ácido butírico                              | Azedo, manteiga, queijo                     |      |          |
| Ácido cáprico                               | Gordura, grama, poeira                      | ---  | 19,3     |
| Ácido caprílico                             | Queijo, gordura, grama                      | 17   | --       |
| Ácido capróico                              | Azedo, pungente, queijo                     | --   | --       |
| <b>Fenol</b>                                |   |      |          |
| 4-vinil guaicol                             | Cravo, curry, tempeiro                      | ---  | 1        |

**Fonte:** Elaboração do autor.

É importante destacar que existem limiares de percepção para o paladar referente a cada composto descrito na tabela 1 (OLANIRAN et al., 2017). No entanto, para os valores proporcionais detectados no presente trabalho não é possível afirmar se algum destes compostos apresentou valores suficientes para serem detectados pelos degustadores. Contudo, pode-se afirmar que o perfil sensorial destas cervejas, agradou aos consumidores, pelas notas obtidas na análise sensorial. As mesmas foram relativamente maiores que as notas obtidas pela levedura controle, indicando que o balanço dos compostos encontrados na cerveja propiciou ótima aceitação dos mesmos.

## **5.4 Análise e perfil sensorial das cervejas**

### *5.4.1 Perfil sensorial das cervejas produzidas em escala piloto*

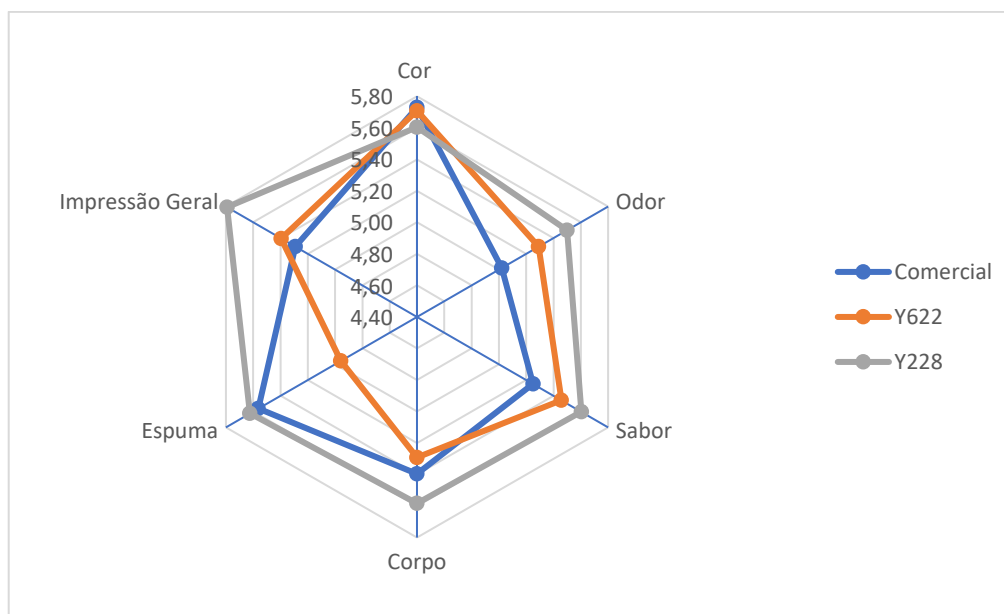
O mosto usado para fermentação das amostras foi desenvolvido utilizando uma base de uma receita Belga. Nesse grupo de cervejas, os aromas destacados são provenientes principalmente dos subprodutos da atividade fermentativa da levedura. Na composição do mosto foi utilizado um mínimo de maltes especiais, para que o papel fermentativo da levedura no processo de produção da bebida fosse mais evidenciado, levando em conta parâmetros do BJCP. A tabela 2 mostra as médias dos valores obtidos de cada atributo realizado na análise sensorial.

**Tabela 2.** Valores médios atribuídos no teste de aceitação das amostras de cerveja produzidas em escala piloto com nota mínima de 1 (desgostei extremamente) e máxima de 7 (gostei extremamente)

| <b>Amostra</b>                                   | <b>Atributos</b> | <b>Médias de Valores</b> | <b>Desvio Padrão</b> |
|--|------------------|--------------------------|----------------------|
| <b><i>Saccharomyces cerevisiae</i> comercial</b> | Cor              | 5,73                     | 0,91                 |
|  | Odor             | 5,02                     | 1,22                 |
|  | Sabor            | 5,25                     | 1,3                  |
|  | Corpo            | 5,40                     | 0,96                 |
|  | Espuma           | 5,56                     | 0,96                 |
|  | Impressão Geral  | 5,29                     | 1,12                 |
| <b><i>S. cerevisiae</i> UFMG-CM-Y622</b>         | Cor              | 5,71                     | 0,93                 |
|  | Odor             | 5,29                     | 0,98                 |
|  | Sabor            | 5,46                     | 1,02                 |
|  | Corpo            | 5,29                     | 1,34                 |
|  | Espuma           | 4,96                     | 1,34                 |
|  | Impressão Geral  | 5,40                     | 0,91                 |
| <b><i>S. cerevisiae</i> UFMG-CM-Y228</b>         | Cor              | 5,60                     | 0,88                 |
|  | Odor             | 5,50                     | 1,06                 |
|  | Sabor            | 5,60                     | 1,13                 |
|  | Corpo            | 5,58                     | 0,93                 |
|  | Espuma           | 5,63                     | 1,03                 |
|  | Impressão Geral  | 5,79                     | 0,87                 |

**Fonte:** Elaboração do autor.

Observa-se que as amostras produzidas com leveduras indígenas UFMG-CM-Y228, UFMG-CM-Y622 e com a levedura comercial obtiveram notas médias entre 4,96 e 5,79, sendo consideradas bem avaliadas em todos os quesitos de aroma e sabor. A figura 21 mostra que a levedura UFMG-CM-Y228 obteve melhor aceitação seguida pela levedura UFMG-CM-Y622 e, por último, a levedura comercial. O perfil sensorial da cerveja produzida com a linhagem UFMG-CM-Y228 agradou os consumidores, provavelmente devido ao balanço de ésteres, fenóis e álcoois encontrados na bebida.



**Figura 21:** Teste de aceitação das cervejas produzidas pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228 e UFMG-CM-Y622) em escala piloto. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

#### 5.4.2 Teste de aceitação da cerveja produzida em escala industrial

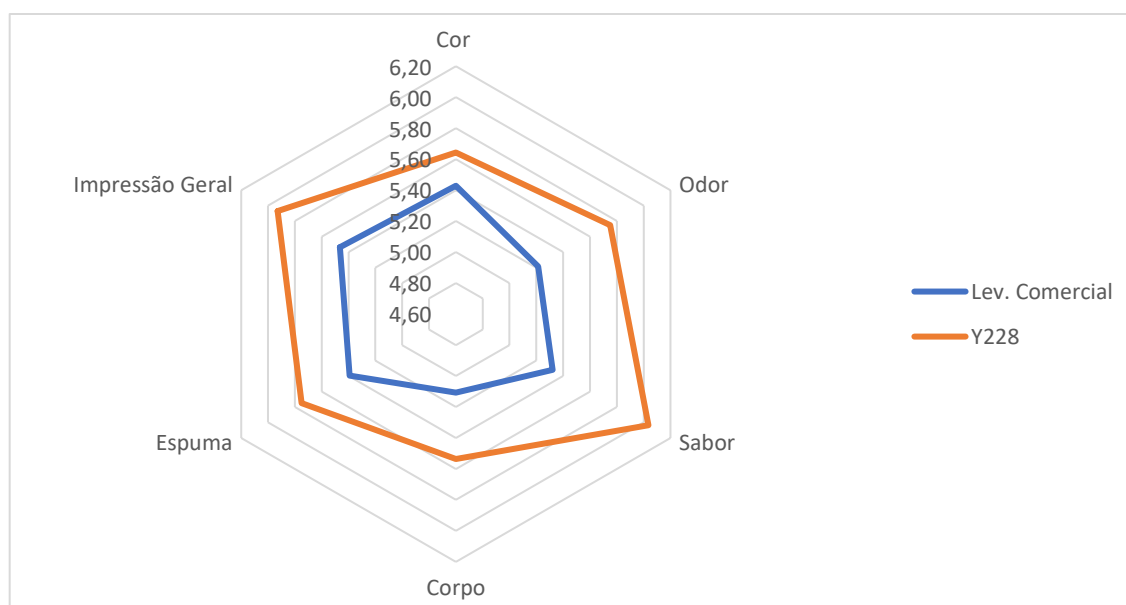
De acordo com a análise sensorial, a cerveja produzida com a levedura UFMG-CM-Y228 obteve o melhor perfil de avaliação sensorial quando comparada com as outras leveduras testadas. No teste de preferência, esta linhagem de levedura foi escolhida pelos provadores, sendo, então, designada para produção industrial. O mosto usado para fermentação das amostras na escala industrial também foi desenvolvido utilizando a mesma base de receita Belga, nas mesmas proporções da escala piloto na empresa LOBA. Para a análise sensorial dessas cervejas foram realizados o teste de aceitação e o teste de intenção de compra para avaliar a levedura UFMG-CM-Y228. A tabela 3 mostra as médias dos valores obtidos de cada atributo realizado na análise sensorial na escala industrial.

**Tabela 3.** Valores médios atribuídos no teste de teste de aceitação das amostras de cerveja produzidas em escala industrial com nota mínima de 1 (desgostei extremamente) e máxima de 7 (gostei extremamente)

| Amostra                                   | Atributos       | Médias de Valores | Desvio Padrão |
|---|-----------------|-------------------|---------------|
| <b>Saccharomyces cerevisiae comercial</b> | Cor             | 5,43              | 0,63          |
|   | Odor            | 5,21              | 0,79          |
|   | Sabor           | 5,32              | 0,94          |
|   | Corpo           | 5,11              | 0,79          |
|   | Espuma          | 5,39              | 0,79          |
|   | Impressão Geral | 5,46              | 0,79          |
| <b>S. cerevisiae UFMG-CM-Y228</b>         | Cor             | 5,64              | 0,95          |
|   | Odor            | 5,75              | 0,93          |
|   | Sabor           | 6,04              | 0,96          |
|   | Corpo           | 5,54              | 1,0           |
|   | Espuma          | 5,75              | 0,97          |
|   | Impressão Geral | 5,93              | 0,81          |

Fonte: Elaboração do autor.

A figura 22 mostra que tanto a levedura comercial quanto a levedura selecionada tiveram ótima aceitação com notas médias entre 5,29 e 5,79. A levedura UFMG-CM-Y228 apresentou melhor nota no quesito de impressão geral. Esta linhagem também obteve notas relativamente maiores nos quesitos de sabor e aromas.



**Figura 22:** Gráfico gerado a partir dos resultados do teste de aceitação das cervejas produzidas e fermentadas pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial, UFMG-CM-Y228) em escala industrial. Fonte: Elaborada pelo autor.

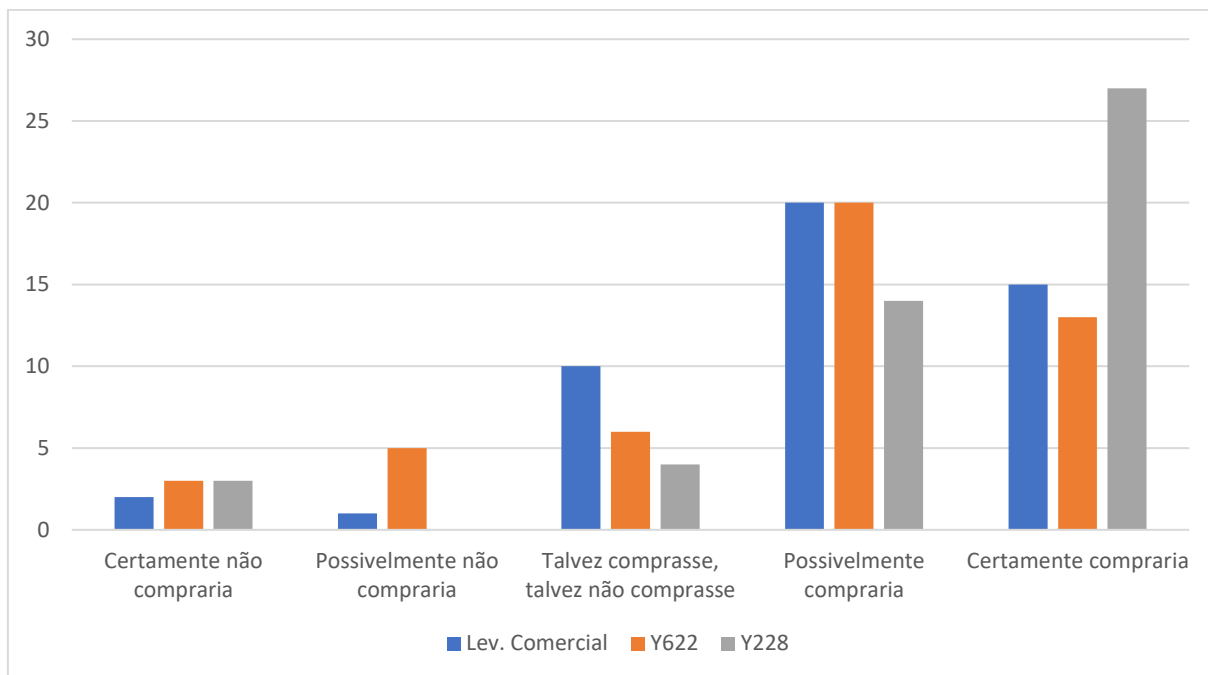


Os quesitos sabor e aroma são muito valorizados pelos consumidores de cervejas artesanais, e podem estar associados ao perfil sensorial com pouca formação de álcoois superiores e quantidades de ésteres e fenóis agradáveis aos provadores. Após o teste de aceitação, com os dados foi realizado o teste estatístico ANOVA. Esse teste é aplicado na análise sensorial com três ou mais amostras. De acordo com os parâmetros estatísticos de comparação, as amostras de leveduras tanto comercial, quanto as linhagens indígenas UFMG-CM-Y228 e UFMG-CM-Y622 foram aceitas tanto na escala piloto, enquanto as leveduras comerciais e UFMG-CM-Y228 foram aceitas na escala industrial.

### **5.5 Teste de Intenção de compra**

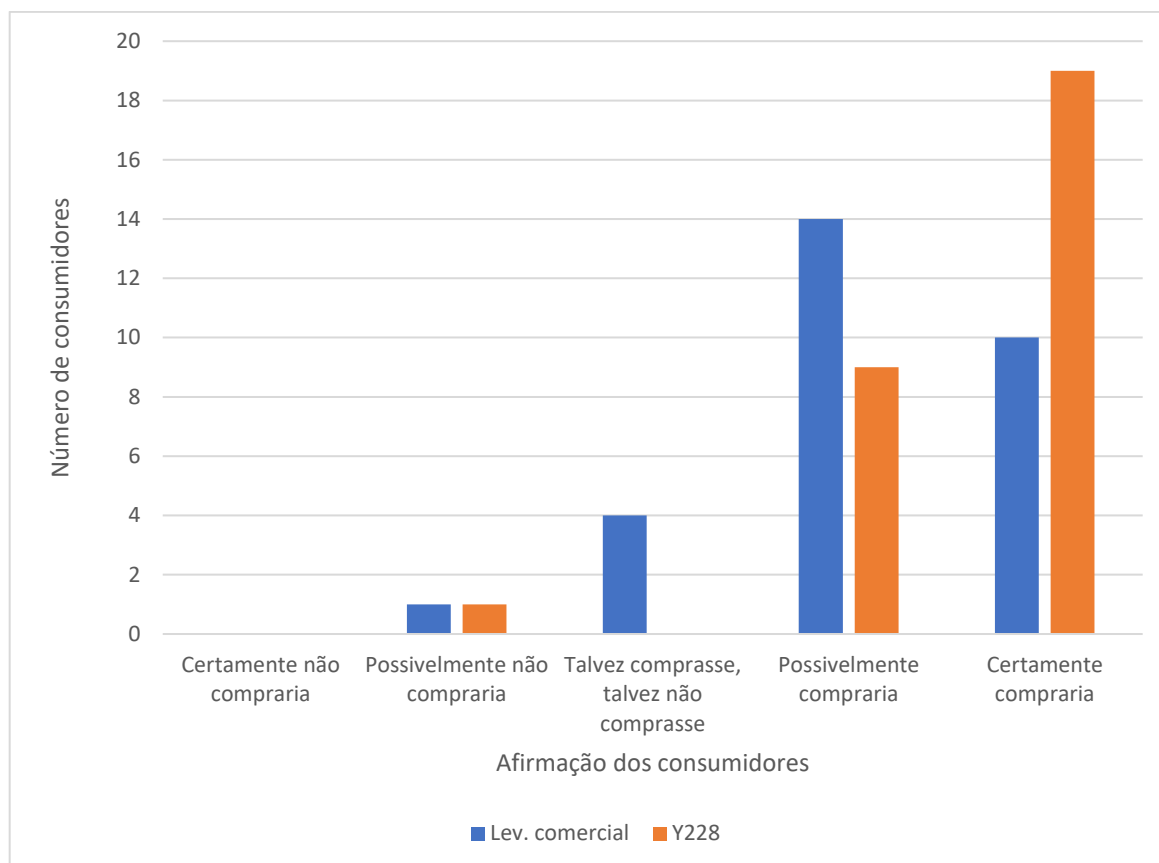
Neste enquadramento, foram entregues aos provadores amostras de cerveja para degustação com uma ficha de intenção de compra (Anexo 1). Nesta ficha, o provador foi questionado com as seguintes perguntas. “Com base em sua opinião sobre as amostras, indique na escala abaixo sua intenção de compra. Qual seria sua atitude de compra em relação a estas cervejas?”

As notas referentes as respostas foram baseadas em uma escala de 1 a 5 (1. Certamente não compraria, 2 – Possivelmente não compraria, 3 – Talvez comprasse, talvez não comprasse, 4 – Possivelmente compraria, 5 certamente compraria). Na figura 23 observa-se que as amostras foram aceitas pelos consumidores no quesito compra, sendo a cerveja produzida com a levedura UFMG-CM-Y228 a mais aceita pelos provadores, seguida pela levedura comercial e logo depois pela levedura UFMG-CM-Y622. O resultado é coerente com o teste de aceitação e perfil sensorial, uma vez que a cerveja produzida com a linhagem UFMG-CM-Y228 foi descrita como a mais agradável nessa análise pelos provadores.



**Figura 23:** Teste de aceitação das amostras de cervejas produzidas pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial e UFMG-CM-Y228 e Y622) em escala piloto. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

Para as cervejas produzidas em escala industrial foi realizado o mesmo teste de intenção de compra, mas dessa vez somente com a levedura comercial e a levedura UFMG-CM- Y228. Os resultados obtidos são mostrados na figura 24.



**Figura 24:** Teste de aceitação das amostras de cervejas produzidas com as linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (linhagem comercial e UFMG-CM-Y228) em escala industrial. **Fonte:** Elaborada pelo autor.

Tanto nas escalas piloto quanto na escala industrial, as cervejas foram bem avaliadas e aceitas. O fato de a produção industrial ter acontecido somente com a levedura UFMG-CM-Y228 não exclui a produção mais tarde com a linhagem UFMG-CM-Y622. Esta linhagem possui ótima capacidade de fermentação e a cerveja produzida apresentou um perfil um pouco mais neutro em comparação com as outras leveduras testadas. Esta levedura pode ser utilizada em fermentações de cervejas com perfil que destaquem o lúpulo ou o malte.

## 6 CONCLUSÕES

- As leveduras indígenas testadas foram eficientes quanto a produção de álcool, consumo de açúcares e geração compostos aromáticos na cerveja durante os experimentos realizados em escala piloto.
- As leveduras não produziram compostos associados com a reprovação dos provadores na etapa da análise sensorial e nem nos testes físico-químicos.
- A linhagem de levedura *Saccharomyces cerevisiae* UFMG-CM-Y228 obteve melhores resultados sensoriais durante a fermentação em escala industrial, portanto esta linhagem de levedura pode fazer parte do portfólio de opções para produção em cervejarias.
- O Brasil em sua biodiversidade conta com inúmeros micro-organismos potenciais para produção de cervejas com características diversas de sabor e aroma.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCARDE, V. Avaliação de parâmetros que afetam a floculação de leveduras e bactérias isoladas de processos industriais de fermentação alcoólica. [S.l.: s.n.], 2001. Academy. *Fermentis*, 2020. Disponível em: <<https://fermentis.com/en/fermentis-academy/>>. Acesso em: 5, mai.2020.

ALVAREZ, F. e colab. Variable flocculation profiles of yeast strains isolated from cachaça distilleries. *International Journal of Food Microbiology*, v. 190, p. 97-104, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.024>>.

ARAÚJO, F.; SILVA, P.; MINIM, V. *Perfil Sensorial de Cervejas Brasileiras*. v. 23, n. 2, p. 121–128, 2003.

ARÊDES, S. C. L.; OLIVEIRA, C. D.; SILVA, J. F.; CARVALHO, R. M. M. Índice de acidez em cerveja. *Anais Simpac*, Univiçosa, v. 8, p. 515-520, 2016.

BASSO, R. F.; ALCARDE, A. R.; PORTUGAL, C. B. Could non-Saccharomyces yeasts contribute on innovative brewing fermentations? *Food Research International*, v. 86, p. 112-120, 2016.

BAMFORTH, C. W. *Beer: tap into art and science of brewing*. Second ed. New York: Oxford University Press, 2003b.

BEER, Modern Sour. *Crossm Microbial Dynamics in Traditional and Modern Sour Beer*. n. July, p. 1-14, 2020.

BETTENHAUSEN, H. M. e colab. Influence of malt source on beer chemistry, flavor, and flavor stability. *Food Research International*, v. 113, n. March, p. 487-504, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.024>>.

BFR - Bundesinstitut Für Risikobewertung. Isoglucose and sucrose (household sugar) can be assessed similarly in terms of the potential to damage health. *Bfr*, n. 1975, p. 1-7, 2018.

BRASIL. Altera o Anexo ao Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. (DECRETO Nº 9.902, DE 8 DE JULHO DE 2019). *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 2019.

BRASIL. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. *Fermentis* - dry yeast for beer, ethanol, wine and spirits. Disponível em: <<https://fermentis.com/en/>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura. *Instrução normativa 65*. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>>. Acesso em: 13 ago. 21

BRASIL. Ministério da Agricultura. *Instrução normativa 65*. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>>. Acesso em: 13 out. 21

BRASIL. Ministério da Agricultura. *Anuário da cerveja no Brasil 2020*. Disponível em: <[http:// https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf](http://https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf)>. Acesso em 18 ago. 2021.

BREWERS ASSOCIATION. *Numbers of brewries*. Disponível em: <https://www.brewersassociation.org/statistics-and-data/national-beer-stats/> . Acesso em: 10 ago. 2021.

BREWERS ASSOCIATION. *National beer Sales and production data*. Disponível em: <<https://www.brewersassociation.org/edu/brewers-association-beer-style-guidelines/>>. Acesso em: 10 ago. 2021.

BOKULICH, N. A.; BAMFORTH, C. W. The Microbiology of Malting and Brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 77, n. 2, p. 157-172, 2013.

BOULTON, C.; QUAIN, D. *Brewing yeast and fermentation*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd., 2001.

BOYNTON, P. J., & GREIG, D. The ecology and evolution of non-domesticated *Saccharomyces* species. *Yeast*, v. 31, n. 12, 449-462, 2014.

BRAND, G; BENTO, C. V. *Elementos Biotecnológicos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 1º PARTE – As Leveduras*, 2006.

BUZRUL, S. High hydrostatic pressure treatment of beer and wine: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 13, n. JANUARY, p. 1-12, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2011.10.001>>.

CABRAS, I; HIGGINS, D. M. Beer, brewing, and business history. *Business History*, v. 58, n. 5, p. 609-624, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/00076791.2015.1122713>>.

CANONICO, L.; COMITINI, F.; CIANI, M. *Torulaspota delbrueckii* contribution in mixed brewing fermentations with different *Saccharomyces cerevisiae* strains. *International Journal of Food Microbiology*, v. 259, n. July, p. 7-13, 2017.

CAPECE, A e colab. *Conventional and Non-Conventional Yeasts in Beer Production*, 2018.

CARDOSO, M. P. e colab. Desenvolvimento de duas Formulações Base de Cerveja Estilo Sour Empregando Kefir e Kombucha na Fermentação/Development of Two Sour Beer Basic Formulations Using Kefir and Kombucha for Fermentation. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 1, p. 5616-5628, 2021.

CARVALHO, G. B. M.; ROSSI, A. A.; ALMEIDA e SILVA, J. B. Elementos

biotecnológicos fundamentasi no processo cervejeiro. *1ª Parte - As leveduras*, v. 25, p. 36-42, 2006.

CERVEJAS do Mundo. *História da Cerveja - a antiguidade*, 2020. Disponível em: <[http://www.cervejasdomundo.com/Na\\_antiguidade.htm](http://www.cervejasdomundo.com/Na_antiguidade.htm)>. Acesso em: 08 out. 2020.

CHRISTOFOLETI-FURLAN, R. M. e colab. Unraveling Brazilian bioethanol yeasts as novel starters for high-gravity brewing. *Food Research International*, v. 135, n. April, p. 109282, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109282>>.

CLEMINTINO, L. S.e colab. *Avaliação da cinética de fermentação de diferentes leveduras comerciais para produção de cerveja tipo pale ale*. [S.d.].

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

DANIEL, S. R. *Designing Great Beers: The Ultimate Guide to Brewing Classic Beer Styles*. Colorado, EUA: Editora: Brewers Publications, 1998.

DUTCOSKY, S. D. *Análise Sensorial em Alimentos*. 3. ed. Curitiba: Ed. Universitária Champagnat, 1996. 123 p.

DRAGONE, G.; SILVA, T. A. O.; SILVA, J. B. A. Cerveja. In: *Bebidas Alcoólicas: Ciências e Tecnologia*. 2ª ed. São Paulo, Brasil. Edgard Blucher Ltda. 2016.

FARIA-OLIVEIRA, F. et al. The Role of Yeast and Lactic Acid Bacteria in the Production of Fermented Beverages in South America. *Food Production and Industry*, 2015.

ESTEVEES, E. *Sensometrics: Análise Sensorial de Bebidas numa Perspectiva Estatística*. n. 1, p. 1-26, 2016.

FIELD, J.; FLEURY, N. W. *Brewing Process Optimization*. 2020. Disponível em: <<https://digitalcommons.wpi.edu/mqp-all/7362>>.

GALLONE, B. e colab. Domestication and Divergence of *Saccharomyces cerevisiae* Beer Yeasts. *Cell*, v. 166, n. 6, p. 1397-1410, 2016.

GALLONE, B. e colab. Origins, evolution, domestication and diversity of *Saccharomyces* beer yeasts. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 49, p. 148-155, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.005>>.

GATZA, P. e colab. BJCP Beer Style Guidelines 2015. *Brewers Association*, p. 47, 2017. Disponível em: <<https://s3-us-west-2.amazonaws.com/brewersassoc/wp-content/uploads/2017/05/2017-BA-Beer-Style-Guidelines.pdf>>.

GIBSON, B., GEERTMAN, J., HITTINGER, C. T., KROGERUS, K., LIBKIND, D., LOUIS, E. J. & SAMPAIO, J. P. New yeasts-new brews: modern approaches to brewing yeast design and development. *FEMS yeast research*, v. 17, n. 4, 2017.

HIERONYMUS, S. *Guia Prático para o aroma, amargor e cultivo de lúpulos*, 1ª Edição. Porto Alegre: Editora Krater, 2020.

HITTINGER, C. T.; STEELE, J. L.; RYDER, D. S. Diverse yeasts for diverse fermented beverages and foods. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 49, n. 1, p. 199-206, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2017.10.004>>.

HOLT, S. e colab. Bioflavoring by non-conventional yeasts in sequential beer fermentations. *Food Microbiology*, v. 72, p. 55-66, 2018.

HOME BREWERS ASSOCIATION. *Recipes*. Disponível em: <<https://www.homebrewersassociation.org/homebrew-recipes/page/2/?type=success&msg=You%20have%20been%20logged%20in%20successfully>>. Acesso em: 07, jun 2021.

JESPERSEN, L. Occurrence and taxonomic characteristics of strains of *Saccharomyces cerevisiae* predominant in African indigenous fermented foods and beverages. *FEMS Yeast Research*, v. 3, n. 2, p. 191-200, 2003.

KLEINNECKE, 2019. *Aspectos Sensoriais da Cerveja*. Disponível em: <<https://www.kleineecke.com.br/aspectos-sensoriais-da-serveja/>>. Acesso em: 12, Jan 2020.

KROGERUS, K. e colab. Novel brewing yeast hybrids: creation and application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 101, n. 1, p. 65-78, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-8007-5>>.

KUCHARCZYK, K. e colab. The effect of yeast generations on fermentation, maturation and volatile compounds of beer. *Czech Journal of Food Sciences*, v. 38, n. 3, p. 144-150, 2020.

LANDRY, C. R. e colab. Ecological and evolutionary genomics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Ecology*, v. 15, n. 3, p. 575-591, 2006.

LARROQUE, M. N. e colab. Effect of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* native yeasts on beer aroma compounds. *International Journal of Food Microbiology*, v. 337, n. November 2020, 2021.

LENTZ, M. The impact of simple phenolic compounds on beer aroma and flavor. *Fermentation*, v. 4, n. 1, 2018.

LIBKIND, D. e colab. Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 108, n. 35, p. 14539-14544, 2011.

LODOLO, E. J. e colab. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* - The main character in beer brewing. *FEMS Yeast Research*, v. 8, n. 7, p. 1018-1036, 2008.

MACFIE, H. J. e colab. Designs To Balance the Effect of Order of Presentation and First-Order Carry-Over Effects in Hall Tests. *Journal of Sensory Studies*, v. 4, n. 2, p.



129-148, 1989.

WHITE,C; ZAINASHEFF,J. *Leveduras: Guia prático para fermentação de cerveja*.1º Edição. Porto Alegre: Editora Krater, 2020.

MALLET, J. *Água*. Edição 1ª. Porto Alegre : Krater, 2021.

MARTINS, A. P.; AURI DE ARAUJO, J.; DE MOURA DOS SANTOS, L. C. *O mercado de cervejas artesanais*. 2018.

MCGOVERN, P. E. e colab. Chemical identification and cultural implications of a mixed fermented beverage from late prehistoric China. *Asian Perspectives*, v. 44, n. 2, p. 249-275, 2005.

MEUSSDOERFFER, F. G. *A Comprehensive History of Beer Brewing*. [S.l: s.n.], 2009.

MERCADO Cervejeiro. *CERVBRASIL*. Disponível em: <[www.cervbrasil.org.br/novo\\_site/mercado-cervejeiro/](http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/mercado-cervejeiro/)>. Acesso em: 20, set 2021.

MICHEL, M. e colab. Review: Pure non-Saccharomyces starter cultures for beer fermentation with a focus on secondary metabolites and practical applications. *Journal of the Institute of Brewing*, v. 122, n. 4, p. 569-587, 2016.

MOLINET, J; CUBILLOS, F. A. Wild Yeast for the Future: Exploring the Use of Wild Strains for Wine and Beer Fermentation. *Frontiers in Genetics*, v. 11, n. November, p. 1-8, 2020.

MONTANDON, G. G. *Seleção de linhagens indígenas de Saccharomyces cerevisiae para produção de cervejas de alta fermentação*. 2016.

MORADO, R. *Larousse da cerveja*. São Paulo: Alaúde editorial, 2017.

MULLER, C. V.; MARCUSSO, E. F. Anuário da Cerveja. *MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*, p. 16, 2019.

NATHAN, A. J.; SCOBELL, A. *How China sees America*. [S.l: s.n.], V. 91, 2012.

NELSON, M.. *Scholarship at UWindsor The Barbarian' s Beverage : A History of Beer in Ancient Europe*. [S.l: s.n.], 2005.

NICHOLSON, M. PEARSON, B. *Viability of Brewer' s Yeast*. p. 23-27, 2014.

OLANIRAN, A. O.; HIRALAL, L; MOKOENA, Mduduzi P. *Flavour-active volatile compounds in beer : production , regulation and control*. n. December 2015, p. 13-23, 2017.

OSBURN, Kara e colab. Primary souring: A novel bacteria-free method for sour beer production. *Food Microbiology*, v. 70, p. 76-84, 2018.

PARAPOULI, M. e colab. *Saccharomyces cerevisiae and its industrial applications*.

[S.l: s.n.], v. 6, 2020.

PALMER, J. J. *How to Brew: Everything You Need to Know to Brew Great Beer Every Time*. 4ª Edição. EUA: Brewers Publications, 2017.

PALMER, J.; KAMINSKI, C. *Água*. Edição 1ª. Porto Alegre : Krater, 2021.

PETRUZZI, L e colab. Brewer's yeast in controlled and uncontrolled fermentations, with a focus on novel, nonconventional, and superior strains. *Food Reviews International*, v. 32, n. 4, p. 341–363, 2016.

PIRES, E. J; TEIXEIRA, J.A; BRÁNYIK, T. *Yeast : the soul of beer ' s aroma - a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast*. p. 1937-1949, 2014.

PONTES, A.; LIBKIND, D. *Taxonomy, Diversity, and Typing of Brewing Yeasts*. [S.l: s.n.], 2009.

POWELL, C. D.; QUAIN, D. E.; SMART, K. A. The impact of brewing yeast cell age on fermentation performance, attenuation and flocculation. *FEMS Yeast Research*, v. 3, n. 2, p. 149-157, 2003.

PUNČOCHÁŘOVÁ, L. Study of the influence of brewing water on selected analytes in beer. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, v. 13, n. 1, p. 507-514, 2019.

RIBAS, P. C.; AMORIM, C. P.; MONTEIRO, L. E. C. *Otimização de Recursos para Maximizar os Lucros em uma Fábrica de Cerveja: Utilização da Pesquisa Operacional para o Encontro*. p. 1-9, 2014.

RIBEIRO, C. A. F; HORII, J. Potencialidades de linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação do caldo de cana. *Scientia Agricola*, v. 56, n. 2, p. 255-263, 1999. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90161999000200001&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161999000200001&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em: 14 ago 2021.

SAMPAIO, J. P e colab. *Taxonomy, Diversity, and Typing of Brewing Yeasts*. [S.l: s.n.], 2017.

SANTOS, A. S. e colab. Aplicação da fermentação mista na produção de cervejas artesanais. *Diversitas Journal*, v. 6, n. 1, p. 783-800, 2021.

SENAI. *Tecnologia Cervejeira*. Rio de Janeiro: SENAI, 2014.

SERRA COLOMER, M.; FUNCH, B.; FORSTER, J. The raise of *Brettanomyces* yeast species for beer production. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 56, p. 30-35, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.009>>.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: Implicações para a saúde. *Revista de Nutricao*, v. 24, n. 6, p. 895-904, 2011.

SICARD, D.; LEGRAS, J. L. Comptes Rendus Biologies Bread , beer and wine : Yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex ` re et vin : domestication des levures du complexe d ' espe. *Comptes rendus - Biologies*, v. 334, n. 3, p. 229-236, 2011a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.crv.2010.12.016>>.

SICARD, D.; LEGRAS, J. L. Bread, beer and wine: Yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex. *Comptes Rendus - Biologies*, v. 334, n. 3, p. 229-236, 2011b.

SILVA, C. H. P. M. *Microbiologia da cerveja*, 1ª Edição. São Paulo: Livraria da Física , 2019.

SOLIERI, L. *Designing New Yeasts for Craft Brewing*: When, 2020.

STEENSELS, J. e colab. Brettanomyces yeasts - From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, v. 206, p. 24-38, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.005>>.

TECHNICAL COMMITTEE, ASBC. Apparent Extract. *ASBC Methods of Analysis*, p. 3-4, 2011.

TOKPOHOZIN, S. E.; FISCHER, S.; BECKER, T. Selection of a new *Saccharomyces* yeast to enhance relevant sorghum beer aroma components, higher alcohols and esters. *Food Microbiology*, v. 83, n. September 2018, p. 181-186, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.05.014>>.

UOL. Cerveja, uma paixão mundial. *Revista Adega*, 2021. Disponível em: <[revistaadega.uol.com.br/artigo/cerveja-uma-paixao-mundial\\_6471.html](http://revistaadega.uol.com.br/artigo/cerveja-uma-paixao-mundial_6471.html)>. Acesso em: 10, jan 2020.

VAN RIJSWIJCK, I. M. H. e colab. Performance of non-conventional yeasts in co-culture with brewers' yeast for steering ethanol and aroma production. *Microbial Biotechnology*, v. 10, n. 6, p. 1591-1602, 2017.

VANDERHAEGEN, B. e colab. Bioflavoring and beer refermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 62, n. 2-3, p. 140-150, 2003.

VERBELEN, P. J. e colab. Impact of pitching rate on yeast fermentation performance and beer flavour. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 82, n. 1, p. 155-167, 2009.

VIEJO, C. G.; FUENTES, S.; TORRICO, D. D.; GODBOLE, A.; DUNSHEA, F. R. Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking. *Food chemistry*, 293, 479-485, 2019.

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

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. *Um guia prático do campo à cervejaria*. 1º Edição. Porto Alegre: Editora Krater, 20 de ago 2021.

WHITE, C. Z. *Levedura*. Edição 1ª. Porto Alegre : Krater, 2021.

WHITE-LABS. White Labs. *Pure Yeast and Fermentation*. Disponível em: <<https://www.whitelabs.com/education>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

WIERZBICKI, A. Evaluating a new reputation algorithm with consideration for fairness. *Proceedings - The International Conference on Emerging Security Information, Systems, and Technologies, SECURWARE 2007*, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2007.

WILLAERT, R. *Section V. Beverages: The Beer Brewing Process: Wort Production and Beer Fermentation*. [S.l: s.n.], 2006. v. 1.

## ANEXOS

### Anexo 1: Ficha de Avaliação do Teste de Aceitação, Intenção de Compra da Cerveja e Teste de Preferência

#### Ficha de Avaliação do Teste de Aceitação, Intenção de Compra da Cerveja e Teste de Preferência.

|                |                  |
|----------------|------------------|
| <b>Nome:</b>   | <b>Provedor:</b> |
| <b>E-mail:</b> | <b>Data:</b>     |

**Você está recebendo uma amostra de cerveja. Por favor, avalie para todos os atributos o quanto você gostou ou desgostou do produto utilizando a escala abaixo:**

- 1 - Desgostei extremamente
- 2 – Desgostei muito
- 3 – Desgostei
- 4 – Não gostei nem desgostei
- 5 – Gostei
- 6 – Gostei muito
- 7 – Gostei extremamente

| <b>Código da amostra (3 dígitos)</b> | <b>Cor (aparência)</b> | <b>Odo r</b> | <b>Sabo r</b> | <b>Corp o</b> | <b>Espum a</b> | <b>Impressã o global</b> |
|--------------------------------------|------------------------|--------------|---------------|---------------|----------------|--------------------------|
|                                      |                        |              |               |               |                |                          |
|                                      |                        |              |               |               |                |                          |
|                                      |                        |              |               |               |                |                          |

**Agora, por favor, responda:**

- Com base em sua opinião sobre as amostras, indique na escala abaixo sua **intenção de compra**. Qual seria sua atitude de compra em relação a estas cervejas?

- 1 – Certamente não compraria
- 2 – Possivelmente não compraria
- 3 – Talvez comprasse, talvez não comprasse
- 4 – Possivelmente compraria
- 5 – Certamente compraria

| <b>Código da amostra (3 dígitos)</b> | <b>Intenção de compra</b> |
|--------------------------------------|---------------------------|
|                                      |                           |
|                                      |                           |
|                                      |                           |

**Por gentileza:**

Da esquerda para a direita, ordene-as em ordem **decrecente de preferência** (Da mais preferida para menos preferida anotando o código nos espaços existentes).

## Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido dos provadores

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos  
Provadores**

F

rovador:

---

**Orientador:** Carlos Augusto Rosa (DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA/INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS/UFMG)

**Aluno de Pós-Graduação:** Fábio Ferreira Florêncio

Você está convidado a participar de um teste sensorial de cerveja. Este teste é parte integrante do projeto de pesquisa do aluno Fábio Ferreira Florêncio Mestrando do Programa de Pós-graduação em Microbiologia. Podem participar pessoas que apreciem este produto e que não apresentem nenhuma restrição à ingestão de ingredientes de sua composição, a saber: malte e lúpulo. O objetivo deste trabalho é conhecer a opinião do consumidor sobre amostras de cerveja.

Você irá receber amostras de cerveja e avaliará as mesmas em fichas próprias para esta análise entregues pelo avaliador expressando sua opinião em relação aos produtos; além desta, será necessário o preenchimento de uma ficha com dados pessoais de forma anônima para caracterizar os grupos de provadores. Tais atividades serão realizadas em momento único em laboratório de análise sensorial, à medida que for provando os produtos oferecidos.

Você poderá desistir de participar a qualquer momento, sem que isso lhe traga qualquer prejuízo ou penalização, sem necessidade de justificativa. Apesar de o produto ser submetido à avaliação microbiológica prévia e somente ser oferecido à população em caso de comprovada a segurança alimentar, você pode não gostar (sabor, textura, aroma) e/ou sentir algum desconforto ao provar o produto, sendo assim, você em nenhum momento será obrigado (a) a engoli-lo sendo totalmente permitido o descarte do produto em local apropriado para tal atividade. As análises serão realizadas de forma anônima, garantindo o sigilo ao avaliador, sendo assim, não se sinta constrangido (a) ao responder o questionário de avaliação do produto.

Esta pesquisa não apresenta nenhum benefício individual direto aos provadores. Os dados fornecidos são considerados confidenciais, sendo totalmente garantidos o sigilo das informações e sua privacidade.

**A SUA PARTICIPAÇÃO NO PROJETO TEM CARÁTER VOLUNTÁRIO E NÃO LHE TRARÁ NENHUM TIPO DE ÔNUS OU REMUNERAÇÃO.**

Desde já agradecemos sua  
colaboração.

Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa e Fábio Ferreira Florêncio – Fone: (31) 3409-2739

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP/UFMG): Avenida Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II 2º andar sala 2005 Campus Pampulha 31270-901 Belo Horizonte MG Brasil Telefax: (31) 3499-4592 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Compreendi e concordo com as informações que me foram

## Anexo 3. Questionário de coleta de dados para análise sensorial de cerveja

### Questionário de Coleta de Dados para Análise Sensorial de Cerveja

Número do Proveedor: \_\_\_\_\_

Caso tenha concordado em participar deste projeto, por favor, complete o questionário com todas as informações solicitadas, as quais serão mantidas confidenciais. Desde já agradecemos sua colaboração.

|                        |                      |
|------------------------|----------------------|
| <b>Nome:</b> _____     |                      |
| <b>Telefone:</b> _____ | <b>E-mail:</b> _____ |

**Gênero:**  Masculino  Feminino

**Idade:**  < 18  18-25  26-35  36-45  46-55  56-65

**Escolaridade:**

- Ensino fundamental incompleto  
 Ensino fundamental completo  
 Ensino médio incompleto  
 Ensino médio completo  
 Superior incompleto  
 Superior completo  
 Pós-graduação: Especialização  
 Pós-graduação: Mestrado/Doutorado

**Profissão:** \_\_\_\_\_

**Renda familiar mensal:**

- 1 a 5 salários mínimos  
 > 5 a 10 salários mínimos  
 > 10 a 20 salários mínimos  
 > 20 a 30 salários mínimos  
 > 30 salários mínimos

**Você está fazendo uso de algum medicamento?**

Sim  Não Qual(is)? \_\_\_\_\_

**Você está seguindo alguma dieta especial?**

Sim  Não Qual(is)? \_\_\_\_\_

**Você tem alguma restrição de saúde que impossibilite ou torne não recomendado o consumo de cerveja?**

Sim  Não Qual(is)? \_\_\_\_\_

**Você tem alguma restrição de saúde que impossibilite ou torne não recomendado o consumo de malte e lúpulo?**

Sim  Não Qual(is)? \_\_\_\_\_

**Você gosta de cerveja?**

Sim  Não

**Com que frequência você consome cerveja?**

- Nunca  
 Raramente  
 Esporadicamente  
 Frequentemente  
 Diariamente

# Belgian Pale Ale / Escala Piloto

Belgian Pale Ale (16 B)

**Type:** Tudo Grão  
**Batch Size:** 60,00 L  
**Boil Size:** 85,23 L  
**Boil Time:** 60 min  
**End of Boil Vol:** 83,33 L  
**Final Bottling Vol:** 58,00 L  
**Fermentation:** Ale, Two Stage

**Date:** 06 Oct 2021  
**Brewer:** Fábio Ferreira Florêncio  
**Asst Brewer:**  
**Equipment:** Equipamento UFMG/Piloto  
**Efficiency:** 68,00 %  
**Est Mash Efficiency:** 90,7 %  
**Taste Rating:** 30,0



## Taste Notes:

Prepare for Brewing

- Ativação de Levedura Não Utilizada
- Clean and Prepare Brewing Equipment
- Total Water Needed: 103,90 L
- Mash Water Acid: Nenhum

Mash or Steep Grains

Ingredientes da Mostura

| Qtd     | Nome                          | Tipo | # | %/IBU  | Volume |
|---------|-------------------------------|------|---|--------|--------|
| 4,60 kg | Pilsner (2 Row) Bel (3,9 EBC) | Grão | 1 | 33,7 % | 3,00 L |
| 4,60 kg | Wheat Malt, Bel (3,9 EBC)     | Grão | 2 | 33,7 % | 3,00 L |
| 3,00 kg | Caraamber (59,1 EBC)          | Grão | 3 | 22,0 % | 1,96 L |
| 1,45 kg | Melanoiden Malt (39,4 EBC)    | Grão | 4 | 10,6 % | 0,95 L |

Etapas da Mostura

| Nome             | Descrição                               | Temperatura | Duração |
|------------------|---|-------------|---------|
| Protein Rest     | Adicionar 40,60 L de água a 53,5 C      | 50,0 C      | 30 min  |
| Saccharification | Aquecer até 64,4 C no decurso de 15 min | 64,4 C      | 75 min  |
| Mash Out         | Aquecer até 75,6 C no decurso de 10 min | 75,6 C      | 10 min  |

- Sparge Water Acid: Nenhum
- Lavar os grãos com 63,30 L de água a 75,6 C
- Add water to achieve boil volume of 85,23 L
- Estimated pre-boil gravity is 1,044 SG

Ingredientes da Fervura

| Qtd     | Nome  | Tipo   | # | %/IBU     | Volume |
|---------|---|--------|---|-----------|--------|
| 94,00 g | Willamette [5,50 %] - Fervura 60,0 min        | Lúpulo | 5 | 17,2 IBUs | -      |
| 37,00 g | Hallertau Magnum [14,00 %] - Fervura 10,0 min | Lúpulo | 6 | 6,3 IBUs  | -      |

- Estimated Post Boil Vol: 83,33 L and Est Post Boil Gravity: 1,047 SG

Cool and Transfer Wort

- Cool wort to fermentation temperature
- Transfer wort to fermenter
- Add water if needed to achieve final volume of 60,00 L

Pitch Yeast and Measure Gravity and Volume

- Measure Actual Original Gravity \_\_\_\_\_ (Target: 1,047 SG)
- Measure Actual Batch Volume \_\_\_\_\_ (Target: 60,00 L)

Fermentation

- 06 Oct 2021 - Fermentação Primária (4,00 dias a 19,4 C terminando em 19,4 C)



10 Oct 2021 - Fermentação Secundária (10,00 dias a 19,4 C terminando em 19,4 C)

Dry Hop and Bottle/Keg

- Measure Final Gravity: \_\_\_\_\_ (Estimate: 1,009 SG)
- Date Bottled/Kegged: 20 Oct 2021 - Carbonation: Usar 341,16 g Corn Sugar
- Age beer for 30,00 days at 18,3 C
- 19 Nov 2021 - Drink and enjoy!

Notes

# Belgian Pale Ale / Escala Cerve

Belgian Pale Ale (16 B)

**Type:** Tudo Grão  
**Batch Size:** 1500,00 L  
**Boil Size:** 1585,23 L  
**Boil Time:** 60 min  
**End of Boil Vol:** 1583,33 L  
**Final Bottling Vol:** 1498,00 L  
**Fermentation:** Ale, Two Stage

**Date:** 06 Oct 2021  
**Brewer:** Fábio Ferreira Florêncio  
**Asst Brewer:**  
**Equipment:** Equipamento LOBA  
**Efficiency:** 68,00 %  
**Est Mash Efficiency:** 68,9 %  
**Taste Rating:** 30,0



## Taste Notes:

### Prepare for Brewing

- Ativação de Levedura Não Utilizada
- Clean and Prepare Brewing Equipment
- Total Water Needed: 1929,72 L
- Mash Water Acid: Nenhum

### Mash or Steep Grains

#### Ingredientes da Mostura

| Qtd       | Nome                          | Tipo | # | %/IBU  | Volume  |
|-----------|-------------------------------|------|---|--------|---------|
| 130,00 kg | Pilsner (2 Row) Bel (3,9 EBC) | Grão | 1 | 38,3 % | 84,76 L |
| 130,00 kg | Wheat Malt, Bel (3,9 EBC)     | Grão | 2 | 38,3 % | 84,76 L |
| 53,00 kg  | Caraamber (59,1 EBC)          | Grão | 3 | 15,6 % | 34,56 L |
| 26,00 kg  | Melanoiden Malt (39,4 EBC)    | Grão | 4 | 7,7 %  | 16,95 L |

#### Etapas da Mostura

| Nome             | Descrição                               | Temperatura | Duração |
|------------------|---|-------------|---------|
| Protein Rest     | Adicionar 889,09 L de água a 54,0 C     | 50,0 C      | 30 min  |
| Saccharification | Aquecer até 64,4 C no decurso de 15 min | 64,4 C      | 75 min  |
| Mash Out         | Aquecer até 75,6 C no decurso de 10 min | 75,6 C      | 10 min  |

- Sparge Water Acid: Nenhum
- Lavar os grãos com 1040,63 L de água a 75,6 C
- Add water to achieve boil volume of 1585,23 L
- Estimated pre-boil gravity is 1,045 SG

#### Ingredientes da Fervura

| Qtd       | Nome  | Tipo   | # | %/IBU     | Volume |
|-----------|---|--------|---|-----------|--------|
| 1800,00 g | Willamette [5,50 %] - Fervura 60,0 min        | Lúpulo | 5 | 17,3 IBUs | -      |
| 710,00 g  | Hallertau Magnum [14,00 %] - Fervura 10,0 min | Lúpulo | 6 | 6,3 IBUs  | -      |

- Estimated Post Boil Vol: 1583,33 L and Est Post Boil Gravity: 1,047 SG

### Cool and Transfer Wort

- Cool wort to fermentation temperature
- Transfer wort to fermenter
- Add water if needed to achieve final volume of 1500,00 L

### Pitch Yeast and Measure Gravity and Volume

- Measure Actual Original Gravity \_\_\_\_\_ (Target: 1,047 SG)
- Measure Actual Batch Volume \_\_\_\_\_ (Target: 1500,00 L)

### Fermentation

- 06 Oct 2021 - Fermentação Primária (4,00 dias a 19,4 C terminando em 19,4 C)
- 10 Oct 2021 - Fermentação Secundária (10,00 dias a 19,4 C terminando em 19,4 C)

## Dry Hop and Bottle/Keg

- Measure Final Gravity: \_\_\_\_\_ (Estimate: 1,009 SG)
- Date Bottled/Kegged: 20 Oct 2021 - Carbonation: Usar 8811,29 g Corn Sugar
- Age beer for 30,00 days at 18,3 C
- 19 Nov 2021 - Drink and enjoy!

Notes

Anexo 6 - Parâmetros para o cálculo da ANOVA obtidas nos testes de aceitação global das cervejas produzidas pelas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* testadas em escala piloto

| ANOVA                          |                    |                        |           |             |            |
|--------------------------------|--------------------|------------------------|-----------|-------------|------------|
| Fontes de Variação             | Graus de Liberdade | Soma dos quadrados     | Sq medios | F calculado | F tabelado |
| Amostra                        | 2                  | 6,78                   | 3,4       | 4,52        | 3,15       |
| Provador                       | 47                 | 64,7                   | 1,4       | 1,83        |            |
| Resíduo                        | 94                 | 70,52                  | 0,75      |             |            |
| <b>Total</b>                   | 143                | 142                    | 1,0       |             |            |
| <b>Total de provadores: 48</b> |                    | FC = Fator de correção | 4345,0    |             |            |