

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ANA PAULA DA CRUZ SOUSA

**PROSPECÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS COMO CLARIFICANTES
DE CERVEJA ARTESANAL**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2019

ANA PAULA DA CRUZ SOUSA

**PROSPECÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS COMO CLARIFICANTES
DE CERVEJA ARTESANAL**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento Acadêmico de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof.Dr. Manuel Plata Oviedo

CAMPO MOURÃO
2019



TERMO DE APROVAÇÃO
PROSPECÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS COMO
CLARIFICANTES DE CERVEJA ARTESANAL

Por
ANA PAULA DA CRUZ SOUSA

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado no dia 12 de agosto de 2019 como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo

Orientador

Angela Maria Gozzo

Membro da banca

Miguel Angel Aparício Rodriguez

Membro da banca

Nota: O documento original e assinado pela banca examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR campus Campo Mourão.

AGRADECIMENTOS

Sem a permissão e vontade de Deus, minha presença na Universidade não seria possível, a gratidão ao Pai é imensurável, por me capacitar, me proteger e abençoar. Agradeço a poderosa Nossa Senhora Aparecida, por sempre interceder por mim.

Agradeço a minha família, meu alicerce, porto seguro. A minha mãe, Eliana Cruz, por sua força, segurança e nunca nós deixar desistir, ao meu pai Valdemir e meu irmão Paulo, por seu apoio e amor, sou muito grata, e os amo de todo coração.

As mulheres que me trouxeram até aqui. Minha avó Arlinda, mulher que nunca se deixou abalar, dando o que tinha de melhor as pessoas, as minhas tias Márcia, Edna, Nilza, e Neli, por seu amor, apoio e confiança e todos da família que torceram por mim.

E as mulheres que aqui me acompanharam. Giovana Stangherlin, Lara Melo, Amarílis Carvalho, Isabella Oliveira, Carla Monteiro, Gabriela Nogueira, e todos que me ofereceram sua amizade e companhia, muito obrigada.

Aos meus companheiros de laboratório, Lara Paralovo, Ricardo Macedo e Kelly Paulino pelo companheirismo e auxílio.

E ao meu orientador, Prof.Dr. Manuel Plata Oviedo, que em suas atitudes e ações, nunca deixou de ensinar. Termina com o desejo que outras pessoas como eu tenham acesso à universidade pública e de qualidade.

RESUMO

SOUSA, A, P. PROSPECÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS COMO CLARIFICANTES DE CERVEJA ARTESANAL. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão. 2019.

A qualidade de um produto influencia diretamente na total satisfação do consumidor, logo para cervejas, a caracterização da cor é um atributo de suma importância. A turvação acontece quando a cerveja é resfriada em torno de 0°C, tornando o complexo proteína-polifenól insolúvel. Inicialmente a turbidez a frio é reversível caso seja posta em temperatura ambiente. Caso permaneça por um longo intervalo de tempo, ela se transformará em sedimentos, assim o defeito se torna reversível. A utilização de aditivos estabilizantes ou agentes clarificantes, evita este problema, estes produtos são adicionados na fervura e removem os polifenóis, ou as proteínas, ou até mesmo o complexo formado. Nesta pesquisa foram aplicados materiais lignocelulósicos, a base de bagaço de malte e casca de arroz, submetidos à pré-tratamento em meio básico e modificados através de processo de oxidação. Estes materiais foram aplicados no mosto cervejeiro e ao longo da fermentação e maturação. Foram medidos os parâmetros de teores de compostos fenólicos, proteínas, turbidez, cor EBC e teor alcoólico. Por meio destes parâmetros foi possível avaliar a capacidade dos materiais oxidados à base de casca de arroz e bagaço de malte como opção de clarificantes para cervejas. Dentre os dois materiais estudados, a casca de arroz se mostrou mais eficiente que o clarificante a base de bagaço de malte.

Palavras-chave: cerveja artesanal, casca de arroz, bagaço de malte, clarificação, oxidação

ABSTRACT

SOUSA, A, P. PROSPECTION OF LIGNOCELLULOSTIC MATERIALS AS A CLEANER OF CRAFT BEER. 2019. Completion of course work. Food Engineering. Federal Technological University of Paraná. Campo Mourão. 2019.

The quality of a product directly influences total consumer satisfaction, so for beers, color characterization is a very important attribute. Cloudiness occurs when beer is cooled to around 0 ° C, making the protein-polyphenol complex insoluble. Initially cold turbidity is reversible if it is brought to room temperature. If it remains for a long time, it will become sediment, so the defect becomes irreversible. The use of stabilizing additives or clarifying agents avoids this problem as these products are added to the boil and remove the polyphenols or proteins or even the complex formed. In this research were applied lignocellulosic materials, based on malt bagasse and rice husk, subjected to pretreatment in basic medium and modified through oxidation process. These materials, were applied to the brewer's wort and were analyzed along the fermentation and maturation parameters in relation to phenolic compounds contents, proteins, turbidity, EBC color and alcohol content. Through these parameters it was possible to admit the capacity of oxidized materials based on rice husk and malt bagasse as an option for beer clarifiers. Among the two materials studied, rice husk proved to be more efficient than malt pomace clarifier.

Keywords: craft beer, rice husk, malt bagasse, clarifier, oxidation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura base dos alfa e beta ácidos.....	15
Figura 2- Fluxograma da cerveja contendo clarificantes variados.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição da cevada seca.....	16
Tabela 2- Temperaturas de ativação das enzimas presentes no malte de cevada. .	20
Tabela 3- Compostos fenólicos ao longo do tempo de obtenção de cerveja do tipo lager em mg/L.	29
Tabela 4 – Quantificação de proteínas ao longo do tempo de obtenção de cerveja do tipo lager em mg/L.....	31
Tabela 5 – Cor pelo método EBC	32
Tabela 6 – Teor alcoólico (%v/v).....	33
Tabela 7 – Turbidez (absorbância 600 nm) ao longo do tempo de fermentação e maturação.	34
Tabela 8 – Comparação entre os resultados obtidos e amostras de cervejas de cervejaria local.	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Compostos fenólicos ao longo do tempo em mgEAG/L.....	27
Gráfico 2 – Redução de proteínas ao longo do tempo em mg/L.....	29
Gráfico 3 –Redução da turbidez ao longo do tempo em nm.....	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 Água.....	15
3.2 Malte	15
3.3 Lúpulo	16
3.4 Levedura	17
3.5 Adjuntos e auxiliares de processo.....	18
3.6 PROCESSAMENTO DA CERVEJA ARTESANAL	19
3.6.1 Moagem do Malte	19
3.6.2 Mosturação	19
3.6.3 Fervura.....	20
3.6.4 Fermentação	21
3.6.5 Maturação	21
3.6.6 Envase	21
3.7 Estilo Lager	22
3.8 Características da casca de arroz e bagaço de malte	23
3.8.1. Casca de arroz.....	23
3.8.2 Bagaço de malte	23
4. Materiais e Métodos	24
4.1 Materiais.....	24
4.2 Métodos	24
4.2.1 Pré tratamento dos materiais lignocelulósicos	24
4.2.2 Oxidação dos materiais lignocelulósicos.....	24
4.2.3 Fabricação e aplicação dos materiais lignocelulósicos na cerveja.....	25
4.3 Caracterização físico-química da cerveja clarificada	26
4.3.1 Determinação de compostos fenólicos	26
4.3.2 Quantificação de proteínas pelo método de Bradford	27
4.3.3 Determinação da cor.....	27
4.3.4 Medição do teor alcoólico	27
4.3.5 Turbidez	28

4.4 Análises estatísticas.....	28
5. Resultados e discussões	29
5.1 Determinação de compostos fenólicos	29
5.2 Determinação de proteínas.....	30
5.3 Determinação da cor.....	32
5.4 Determinação de teor alcoólico.....	33
5.5 Determinação de turbidez	33
6. Comparação com cervejas produzidas por cervejaria local.....	35
7. Conclusão	36
Referências.....	37

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1997) a cerveja pode ser definida como uma bebida oriunda por fermentação alcoólica de mosto proveniente de malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo. O malte de cevada poderá ser substituído por adjuntos (cevada, arroz, trigo, centeio, milho, aveia e sorgo, todos integrais, em flocos ou a sua parte amilácea, em sumo, cereais ou vegetais de alta disponibilidade) e por carboidratos de origem vegetal, transformados ou não. Segundo o tipo de leveduras, as cervejas podem ser classificadas como Lager, de baixa fermentação e Ale de alta fermentação (VENTURINI FILHO, 2010).

Um dos principais aspectos avaliados em um produto é a qualidade, que se relaciona diretamente com a satisfação do consumidor. Como primeira impressão sobre o produto, a qualidade visual se destaca, então a cerveja deve se apresentar límpida, sem deposição de sedimentos no fundo das embalagens que podem ser produzidas devido à turbidez. Estes defeitos podem trazer ao consumidor a impressão de que o produto possa estar estragado (AQUARONE *et. al.*, 2001).

Mesmo depois de acabado todos os processos de clarificação da cerveja, como a centrifugação e filtração, podem ocorrer à turvação que prejudica sua qualidade final. Ela acontece quando a cerveja é resfriada em torno de 0°C, tornando o complexo proteína-polifenól insolúvel. Inicialmente à turbidez a frio é reversível caso seja posta em temperatura ambiente. Caso permaneça por um longo intervalo de tempo, ela se transformará em sedimentos, assim o defeito se torna irreversível. A utilização de agentes clarificantes evita este problema, alguns de estes produtos são adicionados na fervura e removem os polifenóis, ou as proteínas, ou até mesmo o complexo formado (AQUARONE *et al.*, 2001).

Os coadjuvantes mais utilizados para evitar o processo de turvação são os clarificantes de panela que são acrescentados ao mosto ao final de fervura, para uma maior eficácia na remoção das proteínas; os mais comuns são o musgo irlandês e a carragena. Estes produtos agem removendo as proteínas por decantação, se complexa com as mesmas aumentando a densidade do sólido, facilitando a sedimentação, possibilitando seu expurgo com o *trub* (constituído por

proteínas, bagaço do lúpulo, polifenóis e minerais) da panela juntamente com o fermento ao final da fermentação (BYO, 2006). Assim, a indústria cervejeira de maneira geral, busca materiais que possam ser similares aos coadjuvantes de panela.

Uma forma de tornar os processos industriais mais baratos, conscientes e eficientes é a de utilizar resíduos, buscando metodologias e aplicações viáveis para os impreteríveis materiais de refugo que são obtidos do processamento. Assim quando praticável, o resíduo final dará origem a uma matéria prima integrando em uma nova constituição (CEREDA, 2000).

Na alimentação humana, muito subprodutos são gerados, e eles podem ser classificados em relação ao quanto podem ser reaproveitados. A própria indústria cervejeira gera uma grande demanda de resíduos sólidos, gerados em sua grande maioria nas etapas de filtragem, envase, tratamento de água, e dentro deles aponta-se o bagaço de malte, um resíduo gerado após a brassagem, que antecede a fervura (UNEP, 1996).

O bagaço de malte, oriundo da cevada malteada, se apresenta como o maior subproduto do processo produtivo da cerveja, sendo um material de volume muito grande e o custo baixo (MUSSATTO; DRAGONE; ROBERTO, 2006). Sua composição apresenta quantidades relevantes de material lignocelulósico sendo elas: 35% de hemicelulose, 20 % de celulose, 10% de lignina (REINOLD, 1997).

Já o beneficiamento do arroz gera como subproduto, a casca, sendo este um resíduo pouco utilizado. Na constituição da casca do arroz, tem-se aproximadamente 40% de celulose, 22% de lignina, 18% de hemicelulose e 20% de resíduo inorgânico (LEE e CUTLER, 1975; JAMES e RAO, 1986).

Assim sendo, estes materiais são ricos em grupos hidroxilas, oriundos da celulose e da hemicelulose, tais grupos são passíveis de serem oxidados quando tratados com agentes como hipoclorito de sódio que é um oxidante altamente eficaz e de baixo custo como mostrado no trabalho de Yao *et al.* (2010) ou com peróxido de hidrogênio como reportado por Brasileiro; Colodette; Piló-veloso (2001). A partir destes apontamentos, o seguinte trabalho propôs aplicar os resíduos, bagaço de malte e casca de arroz modificados como potenciais clarificantes de cerveja.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir clarificantes a partir de materiais lignocelulósicos visando à possível aplicação como coadjuvante de clarificação do mosto cervejeiro.

2.2 Objetivos específicos

- Submeter a casca de arroz e bagaço de malte a processos de pré-lavagem e oxidação, visando posterior comportamento análogo a clarificantes comerciais.
- Verificar a capacidade da casca de arroz e do bagaço de malte oxidados na remoção de proteínas e de compostos fenólicos e diminuição de turbidez.
- Avaliar a capacidade da casca de arroz e do bagaço de malte oxidados na obtenção de cervejas mais claras.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A cerveja é constituída em sua forma básica por quatro ingredientes: água, malte, lúpulo e leveduras, também conhecidas como fermento, podendo ser acrescido adjuntos e/ou auxiliares de processo (LEWIS e YOUNG, 2002).

3.1 Água

A água pode ser considerada a maior influenciadora na qualidade da cerveja. Os minerais que a compõe podem interagir com os amidos do malte, influenciando de forma negativa ou positiva na reação conversão do amido em açúcares, bem como levar a um abrandamento de sabores específicos, dependentes destes minerais (PALMER, 2006). Ademais, um nível de sais em elevado preconiza o aumento do pH, má formação de açúcares, torna lento o processo de degradação protéica, extração de polifenóis e melhor solubilização das substâncias que causam amargor no lúpulo (SOUZA, 2016).

Controlar o pH da água é um ponto crítico do processo, uma vez que um pH alcalino poderá acarretar na dissolução de materiais presentes (taninos) no malte e nas cascas dos cereais, influenciando de forma negativa no produto final. Para cervejas, um pH ácido (5,1 a 5,4) da água é considerado satisfatório, pois favorece a atuação das enzimas amilases presentes no grão, impactando no aumento no rendimento de maltose e elevação do volume de álcool na bebida (AMBEV, 2011 apud OLIVEIRA, 2011).

3.2 Malte

O malte é um resultado obtido do processo de maceração que consiste em adicionar água a uma massa de grão para que este germine. Deste modo, o grão deve absorver umidade suficiente para estimular a germinação do embrião. A eficiência da germinação influencia diretamente na qualidade do malte (PRIEST, 2009).

Maltear grãos tem como objetivo fazer com que seja produzido uma porção de componentes enzimáticos, como a alfa-amilase, a beta-amilase e as proteases. As amilases ao hidrolisar o amido o transformam em dextrinas e açúcares

fermentescíveis, principalmente maltose, que são utilizados pelas leveduras no processo de fermentação, resultando na produção do álcool (MEGA, *et al.*, 2011).

A constituição das matérias primas aptas para a aplicação cervejeira deve-se atender a critérios como, tamanho, variedade, conteúdo protéico mediano (elevado teor de enzimas) e potencial de modificação e principalmente possuir altos teores de amido para que o rendimento final da cerveja seja maior (BAMFORTH & BARCLAY, 1993). Por isto, a cevada é o grão comumente empregado para obtenção de malte, Venturini Filho (2000) acredita que a cevada maltada confere sabor, odor e corpo que caracterizam a cerveja.

Segundo Palmer (2006), malte oriundo de cevada possui um maior conteúdo de amido, assim obtendo-se uma maior extrato do malte; e quando de baixo teor proteico propicia a obtenção de cervejas. A Tabela 1 relaciona a composição da cevada seca em porcentagem.

Tabela 1- Composição da cevada seca

Composto	%
Carboidratos totais	70 - 80
Proteínas	10,5 - 11,5
Matéria Inorgânica	2,0-4,0
Lipídeos	1,5 -2
Outras Substâncias	1,0-2,0

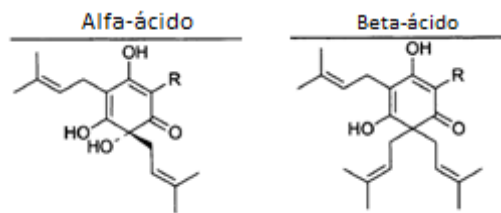
Fonte: Kunze, 1994.

3.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma trepadeira perene utilizada na fabricação da cerveja, onde somente são aplicadas suas flores fêmeas. A forma mais comum de utilização do lúpulo é em pellets (pequenas pelotas de flores prensadas), pois neste modo é o volume é reduzido, facilitando o transporte sem que haja perda das características originais. Sua composição conta com resinas, polifenóis e óleos essenciais que conferem amargor, aroma e propriedades antioxidantes à cerveja (VENTURINI, 2005; NACHEL & ETTLINGER, 2012).

As resinas encontradas no lúpulo são principalmente formadas por α -ácidos, humulonas, e por β -ácidos, lupulonas. O α -ácido é o componente responsável pelo amargor característico na cerveja pois, quando isomerizado (iso-alfa ou iso-humulonas) durante a fervura, torna-se solúvel (CURI, 2006). A figura 1 exemplifica a estrutura que compõe os alfa e beta ácidos.

Figura 1: Estrutura base dos alfa e beta ácidos



Fonte: <http://teoriadecerveja.blogspot.com/2016/08/as-resinas-do-lupulo.html>

FORSTER, PATINO & SLAUGHTER (2000), obtiveram como resultado de pesquisa entre cervejas com e sem extrato isomerizado, para o caso de cervejas lupuladas, estabilidade microbiológica foi mais eficiente, e foi obtido uma menor produção de espuma comparado as sem extrato. Além disso, as cervejas lupuladas têm concentrações mais baixas de zinco, ferro e cobre.

3.4 Levedura

As leveduras são caracterizadas com uma classe de microrganismos com uma gama de aplicações em processos fermentativos (BOURGEOIS & LARPENT, 1995). Nas cervejas, as leveduras agem metabolizando os elementos que compõem o mosto. Durante a fermentação, tem-se a conversão de carboidratos assimiláveis (mono, di e tri sacarídeos, como glicose, maltose e maltotriose, respectivamente) em etanol e CO_2 , impactando na produção de uma cerveja de qualidade e estabilidade sensorial adequada (OLIVEIRA, 2011; ESSLINGER, 2009).

As cervejas tem sua classificação relacionada pelo teor de álcool e extrato, pela qualidade do malte ou conforme o tipo de fermentação. As leveduras mais utilizadas na produção de cervejas são de duas espécies do gênero *Saccharomyces*. As cervejas de alta fermentação produzidas por leveduras de tipo Ale (*Saccharomyces cerevisiae*) que operam na faixa de temperatura de 20°C a 25°C, e no decorrer da fermentação, a levedura sobe à superfície do mosto. Tem-se

também cervejas produzidas por baixa fermentação, que são desenvolvidas nas temperaturas entre 9°C e 14°C, por leveduras de tipo Lager (*Saccharomyces pastorianus*, anteriormente denominadas *Saccharomyces calshbergensis* ou *uvarum*), que ao final da fermentação decantam (SINDICERV, 2011 apud BORTOLI *et al.*, 2013; LODOLO, *et al.*, 2008).

Segundo CARVALHO (2009), para um resultado eficiente, as leveduras aplicadas no processamento de cerveja, devem possuir determinadas características como:

- a) O crescimento celular em demasia deve ser evitado por meio da alta velocidade de fermentação;
- b) Devem converter etanol a partir do açúcar de forma eficiente;
- c) Não serem inibidas por altas concentrações de álcool e pressões osmóticas de componentes do mosto;
- d) Devem flocular de forma característica ao seu tipo de cerveja empregado.

3.5 Adjuntos e auxiliares de processo

Segundo a Instrução Normativa N° 54 (2001), entende-se por adjuntos cervejeiros as matérias primas que substituam parcialmente o malte ou o extrato de malte na elaboração da cerveja, Seu emprego não poderá, em conjunto, ser superior a 45% em relação ao extrato primitivo.

Na constituição da cerveja o malte a base de cevada, pode ter sua cota na formulação substituída de forma parcial por ingredientes como açúcares, melados, misturas de amido, grãos (SOHRABVANDI *et al.*, 2010). Estes materiais têm a capacidade de fornecer carboidratos para o mosto cervejeiro, tendo seu uso permitido porque dão como resultado final extratos mais baratos em comparação aos produzidos somente com malte e concedem características desejáveis ao produto, como a diluição dos níveis de nitrogênio e taninos polifenólicos, assim podendo ser aplicados maltes ricos em proteínas e a predisposição de uma cerveja final turva é menor (VENTURINI FILHO & CEREDA 2001) .

Como um auxiliar de processo, agentes clarificantes podem ser aplicados a cerveja, afim de se obter resultados mais eficientes em menor tempo e um produto límpido. Eles agem de forma que suas cargas positivas interagem com as cargas negativas das leveduras e proteínas. Os agentes clarificantes com maior

aplicação são a cola de peixe (ictiocola ou isinglass), ácido tânico, silicatos, polivinilpirrolidona (PVPP) e sílicas géis, com um destaque maior para a k-carragena (ESSLINGER, 2009).

As carragenas possuem uma gama de aplicações como em processamento de lácteos, produtos aquosos e bebidas. Para bebidas, em especial em cervejas, é aplicada como clarificante. A adição de κ -carragena auxilia na clarificação do mosto com lúpulo, pois ocasiona floculação seletiva das proteínas insolúveis, impactando positivamente na cristalinidade da cerveja (AS GRANDES GOMAS, 2011).

3.6 PROCESSAMENTO DA CERVEJA ARTESANAL

3.6.1 Moagem do Malte

A produção da cerveja inicia com a escolha do tipo de malte, sua separação e moagem. Para que haja uma boa conversão de amido em açúcares fermentescíveis, a moagem necessita realizar algumas transformações como: expor a a porção interna do grão, realizando o rompimento da casca no sentido longitudinal, sem que esta perca sua integridade, visto que ela se torna um auxiliar de filtragem; A desintegração total do endosperma, para que as enzimas do malte atuem de forma eficiente; e que a moagem não produza um pó extremamente fino, para que não se forme grumos no mosto (DRAGONE; ALMEIDA e SILVA, 2010).

3.6.2 Mosturação

Na mosturação tem-se a hidrólise do amido a açúcares fermentescíveis e também a de dextrinas de cadeias curtas ou longas. A ação das enzimas produz mosto com aproximadamente 70 a 80% de carboidratos fermentescíveis, que em suspensão em água forma o mosto para a fermentação da cerveja. A mosturação termina com a degradação do amido, que se hidroliza a maltose, glicose e maltotrioses, e forma dextrinas (STEWART, 2000; KUNZE, 1997). No fim da etapa, é separado mosto, e o malte moído é lavado com água quente para extrair o máximo possível de açúcares (BREJAS, 2015).

A escolha das etapas de mosturação em relação a tempo e temperatura sujeita-se ao tipo de cerveja escolhido, como por exemplo na quantidade de

açúcares fermentescíveis ou do quanto de substâncias proteicas de alto peso molecular que definem o corpo da cerveja e a densidade da espuma (VENTURINI FILHO, 2005). As enzimas possuem uma faixa de temperatura ótima, o que auxilia na escolha das rampas de temperatura. A Tabela 2 relaciona as temperaturas ótimas para a ativação de enzimas presentes na cevada.

Tabela 2- Temperaturas de ativação das enzimas presentes no malte de cevada.

Enzimas	Temperaturas Ótimas(°C)	Função
Hemicelulases	40-45	Decomposição da hemicelulose em produtos de médio e baixo peso molecular
Exopeptidases	40-50	Decomposição das proteínas de alto e médio peso molecular em aminoácidos
Endopeptidases	50-60	Decomposição das proteínas em produtos intermediários de alto e médio peso molecular
Dextrinase	55-60	Decomposição do amido em maltose e maltotriose pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 6$
β-amilase	60-65	Decomposição do amido em maltose pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 4$
α-amilase	70-75	Decomposição do amido em dextrinas inferiores pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 4$

Fonte: TSCHOPE (2001), adaptado.

3.6.3 Fervura

Para efeito de esterilização e estabilização do mosto e eliminação de aromas indesejados, é feito o processo de fervura, onde mosto é fervido em aproximadamente 100°C, por um período de 1-2 horas. O lúpulo é acrescido durante a fervura em diferentes tempos (dependendo de qual característica se queira adotar), com o objetivo de conferir amargor, paladar e aroma. No final da fervura, retira-se o lúpulo e resfria o mosto, para posterior fermentação, é importante depois da fervura, queo mosto fique um tempo em repouso para a sedimentação do Trub, que é uma massa uniforme, composta em sua maioria de proteínas coaguladas e taninos (REINOLD, 1997; AMORIM, 2005).

3.6.4 Fermentação

O processo de fermentação consiste na adição da levedura no mosto, previamente aerado, para que haja oxigênio disponível para a reprodução dos microrganismos, tendo-se a oxidação do piruvato em CO_2 e água, findo a fermentação aeróbia, inicia-se um processo anaeróbio onde as células da levedura passam a fermentar os açúcares em etanol e CO_2 . Ao longo do tempo fermentativo subprodutos são formados, o que impacta diretamente no aroma e sabor da cerveja. A concentração e composição do mosto, o tipo de cepa a qual o microorganismo pertence, a temperatura e o tempo do processo influem nas concentrações deste subprodutos (ESSLINGER, 2009; STEWART, 2000).

3.6.5 Maturação

Com o fim da fermentação, o resultado é conhecido como cerveja verde, pois se apresenta com uma pequena quantidade de CO_2 , e a inferioridade de características como turbidez e qualidade de sabores e aromas em relação ao produto acabado. A maturação também é conhecida como fermentação secundária, pois nesta etapa acontece o consumo do carboidrato residual por leveduras remanescentes, sendo que essas leveduras acabam também por metabolizar outras substâncias produzidas na fermentação que não são desejáveis no produto, (acetaldeído em ácido acético, dicetonas vicinais, como a 2,3-pentanodiona em 2,3-butanodiol, e compostos sulfurados como o sulfeto de dietila, $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{S}$, em sulfatos inorgânicos e etanol). O período da maturação é determinado em relação ao tipo de cerveja, que pode ocorrer entre 6 a 30 dias (BRIGGS, 2004; ROSA & AFONSO, 2015).

3.6.6 Envase

O envase é a etapa final de cerveja. É realizado pela enchedora para garrafas e latas ou por máquinas de embarrilamento no caso de barris. A cerveja é um produto muito susceptível ao ataque de microrganismos, que causam turbidez e mudanças sensoriais, logo é necessário que antes ou durante o envase a maioria das cervejas tenham procedimentos de pasteurização em flash ou em túnel, ou

filtração estéril, para que ocorra a eliminação de levedura cervejeira residual, leveduras selvagens ou bactérias contaminantes (DRAGONE & ALMEIDA E SILVA; VENTURINI FILHO, 2010).

3.7 Estilo Lager

As Lagers são as cervejas mais consumidas no mundo. Tem sua origem na Europa Central no século 14, são cervejas de baixa fermentação ou fermentação a frio (de 6 a 12°C), com graduação alcoólica geralmente entre 4 e 5%. Dentro de seus tipos mais conhecidos, tem-se a Pilsener, criada no século 19 na cidade de Pilsen, região da Boêmia da República Tcheca, e que por isso muitas vezes é chamada de Pilsen ou Pils ao invés de Pilsener (BREJAS, 2015).

A palavra lager, além de classificar o tipo de fermentação, também abrange todo uma gama de cervejas, que tendem a ser delicadas, limpas e livre de ésteres, mas podem ter leves notas de enxofre derivado de levedura (BONACCORSI, 2016).

STANDARD AMERICAN BEER

São cervejas que agradam o público de maneira geral. Podem ser ales ou lagers. Em sua maioria não são complexas, de sabores são suaves e fáceis de tomar.

INTERNATIONAL LAGER

Internacional Lager são Premium lager que são produzidas na maioria dos países do mundo baseadas partir de estilos americanos ou europeus, possuindo caráter bastante uniforme.

PALE BITTER EUROPEAN BEER

Cervejas de origem alemã, que são claras e ainda tem um balanço amargo, com um leve a moderadamente forte caráter lupulado que destaca lúpulos alemães clássicos (BONACCORSI, 2016).

3.8 Características da casca de arroz e bagaço de malte

3.8.1. Casca de arroz

A casca de arroz é um subproduto obtido durante o processo de beneficiamento do arroz, que representa cerca de 20% seu peso (JULIANO & BECHTEL, 1985).

Na casca de arroz, pode ser encontrado o ácido fítico, que é um modo de armazenamento de fósforo, mais comum na forma de fitato, fazendo ligações a cátions como potássio, magnésio, cálcio, ferro e zinco. O teor se eleva conforme aumenta as camadas externas do grão (LIU *et al.*, 2005).

O ácido fítico atua de forma carregada negativamente e forma complexos ou ligações com moléculas de cargas positivas, como cátions metálicos e proteínas quando está em pH baixo, a maioria das proteínas possui cargas positivas, enquanto que o ácido fítico apresenta-se carregado negativamente. Assim, na interação proteínas e ácido fítico tem-se uma interação eletrostática (DEAK; JOHNSON, 2007).

3.8.2 Bagaço de malte

Material oriundo do processamento cervejeiro, o bagaço de malte também pode ser conhecido como polpa cervejeira, bagaço de malte ou cevada, destacando-se por ser um resíduo produzido o ano todo e em grandes quantidades (CLARK *et al.*, 1987).

Para se quantificar o valor nutricional do bagaço de malte deve-se levar em conta todo o processamento e ao tipo de cerveja fabricada. Alguns fatores, como a localidade de origem dos grãos de cevada e se há ou não uma adição de outros tipos de cereais, como aveia, arroz, milho e trigo, podendo influenciar diretamente na composição química destes subprodutos. Comparado a outros cereais, o grão de cevada maltada ainda possui elevados níveis de antioxidantes, tem a presença de compostos fenólicos, fitatos, e vitamina E, inclusive tocofenóis e tocotrienóis (ZDUNCZYK *et al.*, 2006).

4. Materiais e Métodos

4.1 Materiais

O malte de tipo Pilsen (Agrária) foi adquirido na cervejaria Tauá localizada na cidade de Campo Mourão.

A casca de arroz foi oriunda da empresa na cerealista Feijão de Ouro, localizada na cidade de Maringá, e bagaço de malte pilsen, sendo residuo de uma cerveja produzida anteriormente.

Os insumos cervejeiros utilizados foram: lúpulo citra (12,4% de alfa ácidos), carragena (Whirfloc® G), levedura de baixa fermentação de denominação comercial SAFLAGER™ W-34/70.

4.2 Métodos

4.2.1 Pré tratamento dos materiais lignocelulósicos

Para o pré tratamento em meio básico, segundo BRODEUR, G. *et al.*, 2011 (Adaptado), adicionou-se 50 g dos materiais em uma panela com bomba e circulação contendo água, com pH regulado para 12 por NaOH comercial em escamas, em 80°C, por 3 horas. Ao final deste tempo o pH foi diminuído para 1 com adições de ácido clorídrico, e mantido a 80°C por 3 horas. Finalmente foi lavado com água potável e seco em estufa a temperatura de 60°C por 24 horas.

4.2.2 Oxidação dos materiais lignocelulósicos

A oxidação foi realizada baseada no método descrito por Kuakpetoon e Wang (2006), com modificações. Os materiais foram diluídos em 400 mL de água e 200 mL de solução 12% de Hipoclorito de sódio, até pH 9,5. Por uma hora este pH foi controlado com solução de NaOH 3% e sob agitação e aquecimento. Passada a primeira hora, a solução permaneceu em agitação por 24 horas. Os materiais foram recuperados por filtração em bomba a vácuo, em papel qualitativo lavado várias vezes com água até que estiverem livres de cloro e foram secos a 60° C por 24 horas em estufa com circulação de ar.

4.2.3 Fabricação e aplicação dos materiais lignocelulósicos na cerveja

A concentração de malte pilsen acrescentada foi de 97,77%, malte acidificante MPAC 75 foi de 2,222%, dos clarificantes a base de materiais lignocelulósicos foi de 0,5%, de levedura SAF LAGER™ W-34/70 foi de 0,044%, de carragena foi de 0,01% e a quantidade de água de 4 L.kg⁻¹ de malte.

- Mosturação

O malte pilsen (5 kg) e água potável sem cloro (25 L) foram depositados em uma panela cervejeira com filtro e bomba de retorno de fluido (Microcervejaria Beermax 25L Automatizado), onde a temperatura foi controlada a 35°C graus Celsius por 10 minutos (nesta etapa o pH foi regulado para 5,2 com ácido láctico 85%), 49°C graus Celsius por 10 minutos, 64°C graus Celsius por 1 hora, 70°C graus Celsius por 30 minutos e 78°C por mais 20 minutos.

- Filtragem e lavagem do mosto

O mosto primário foi filtrado na própria panela, que permite a recirculação e a camada de malte que ali estava auxiliou na filtração. A camada de malte foi lavada com água (pH 5,3) 78°C até que o mosto obtido (mosto secundário) atingiu a concentração de sólidos solúveis de 6%. A seguir o mosto foi dividido em quatro amostras para a realização dos ensaios, denominados: controle, CLARIFICANTES goma carragena, casca arroz oxidada e o bagaço de malte oxidado

- Fervura

De forma separada, cada uma das quatro amostras (5 L) foi adicionada a tina de fervura. Após a ebulição do mosto, aguardou-se 20 minutos e adicionou-se o lúpulo citra (1,0 g/L), casca de arroz oxidada (0,5 g/L), bagaço de malte oxidado (0,5 g/L) e aguardou-se 60 minutos. No caso da uso do clarificante goma carragena (50 mg/L), para evitar sua desnaturação, a adição foi realizada 15 minutos antes do fim da fervura. Ao fim deste processo, os mostos foram turbilhonados de maneira circular e rápida até formar um vórtice, assim após 40 minutos de repouso houve a decantação de sólidos (proteínas e compostos fenólicos). O mosto foi retirado cuidadosamente transferido por sifonamento para recipiente fermentador

previamente limpo e esterilizado com vapor.

- Resfriamento

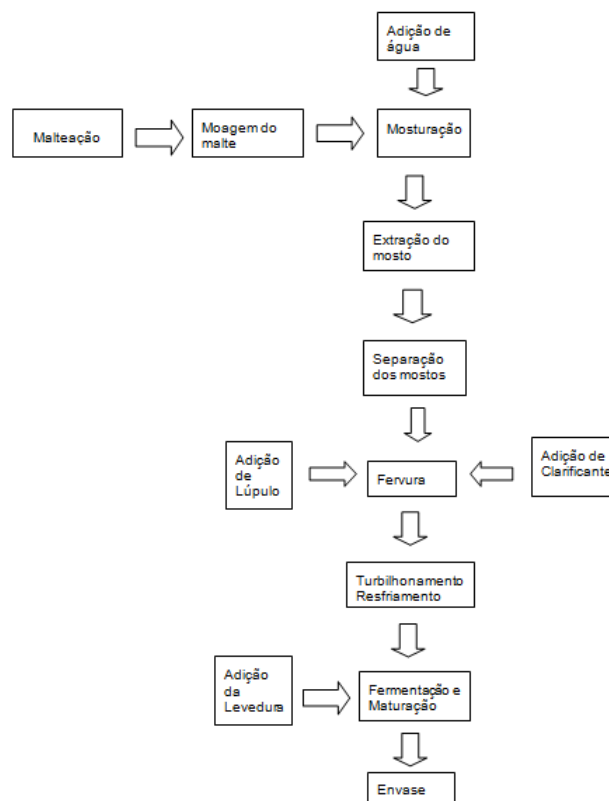
Os mostos foram resfriados com um banho de gelo e água e aerados manualmente por agitação circular.

- Fermentação e maturação

Os fermentadores foram fechados e vedados, e mantidos a 11° C por 14 dias em fermentação, e por mais 21 dias a 0°C em maturação.

A cerveja referida neste trabalho seguiu a ordem detalhada no fluxograma abaixo:

Figura 2- Fluxograma da cerveja contendo clarificantes variados



Fonte: Do autor, 2019.

4.3 Caracterização físico-química da cerveja clarificada

4.3.1 Determinação de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, ou polifenóis, são entendidos como metabólitos secundários dos vegetais com diferentes funções nas plantas. Possuem diferentes

apresentações como os ácidos fenólicos, os flavonóides e os taninos (KING & YOUNG, 1999).

A determinação do índice de compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com a metodologia espectrofotométrica descrita por Folin-Ciocalteu, a partir da metodologia de SINGLETON e ROSSI (1965).

4.3.2 Quantificação de proteínas pelo método de Bradford

A partir da utilização do corante Coomassie brilliant blue” BG-250 , e há uma interação com proteínas, que contém aminoácidos de cadeias laterais, e esta reação provoca um deslocamento de equilíbrio do corante em sua forma aniônica, onde a uma forte absorção em 595 nm.

A metodologia aplicada foi baseada na de Gornall, Bardawill & David (1949).

4.3.3 Determinação da cor

Para determinação da cor, foi aplicado o método European Brewery Convention (1987), transferindo-se cerveja a 20 °C para uma cubeta de vidro. A leitura em espectrofotômetro, modelo (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited), foi realizada utilizando-se comprimento de onda 430 nm e zerando o aparelho com água destilada. A cor foi calculada utilizando a equação 1:

$$Cor (EBC) = A \times 25 \text{ Eq. 1}$$

Onde:

A: Absorbância da amostra a 430nm;

25: fator de conversão.

4.3.4 Medição do teor alcoólico

O teor alcoólico foi estabelecido pela metodologia descrita por PLATA-OVIEDO (2009) na determinação do teor alcoólico das cervejas artesanais, a partir do método de crioscopia. Foram transferidos 20 mL da cerveja previamente descarbonatada, adicionou-se 2 mL de solução de 0,5 mol.L⁻¹ de NaOH e destilou-

se as amostras até o volume de 40 mL, através do fenômeno de arraste de vapor. O líquido destilado foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL e o volume restante completo com adição de água destilada. Desta forma, obteve-se uma diluição da amostra com fator igual a cinco. O ponto de congelamento das amostras destiladas e diluídas foi medido através de um crioscópio (modelo MC 5400). Foi determinado o teor alcoólico de cada uma das cervejas através da comparação dos valores obtidos com a curva de calibração do teor de etanol (v/v%) contra a diminuição do ponto de congelamento. A curva de calibração foi elaborada a partir de soluções com teores de etanol de 0,8 a 2,8% v/v ($y = [(2,944467 \times \Delta t - \Delta H(\text{diminuição do ponto de congelamento})) + 0,021435] \times \text{fator de diluição}$ $r = 0,9989$; $P < 0,001$) e expressos em %Etanol (v/v). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

4.3.5 Turbidez

Foi aplicada a metodologia descrita por DALE, TRAN E LYDDIATT (1995) na realização da análise espectrofotométrica. Alíquotas da região superficial das cervejas, afim de se determinar a turbidez, através da medição da absorbância no comprimento de onda de 600 nm. Foi utilizado um espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited) e utilizou-se água destilada como amostra de branco (amostra controle). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

4.4 Análises estatísticas

Os valores obtidos para os resultados apresentam as médias de análises realizadas em triplicata em relação a cada amostra.

Os dados obtidos foram analisados através de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para a comparação das médias entre os tratamentos, utilizando-se um nível de significância de 5% e para a análise dos dados foi utilizado o programa BioEstat 5.3.

5. Resultados e discussões

5.1 Determinação de compostos fenólicos

Os resultados apresentados em relação ao teor de compostos fenólicos estão apresentados durante todo o processo de fermentação e maturação, observando-se a redução ao final das etapas.

Em seu trabalho, Keukeleire, (2000) discorre sobre a importância da quantificação de compostos fenólicos no processamento da cerveja, pois durante o processamento os polifenóis, podem se polimerizar e combinar com proteínas, causando turbidez no produto. Fantozzi *et. al.*, (1998) apresenta em seu trabalho, que durante todo o processamento da cerveja, há um decréscimo de 28% na concentração de compostos fenólicos.

Os dados de compostos fenólicos obtidos ao longo do experimento estão relacionados na tabela 3. Valores expressos em mg EAG.L⁻¹.

Tabela 3- Compostos fenólicos ao longo do tempo de obtenção de cerveja do tipo lager em mg/L.

Amostra	IF	FF	IM	7M	14 M	FM
SC	611,48± 1,33 ^{aA}	518,06± 10,30 ^{bA}	535,62± 21,06 ^{bA}	484,79± 4,04 ^{cA}	213,17± 3,90 ^{dA}	196,54± 13,72 ^{dA}
CR	605,77± 3,72 ^{aAB}	546,87± 1,07 ^{bB}	491,81± 6,67 ^{cB}	476,41± 19,68 ^{cA}	273,39± 3,34 ^{dB}	225,10± 2,60 ^{eB}
BM	598,88± 3,02 ^{aB}	495,48± 4,81 ^{bC}	560,26± 2,07 ^{cA}	527,72± 13,11 ^{dB}	199,85± 7,36 ^{eAC}	200,67± 2,84 ^{eAC}
CA	586,28± 5,31 ^{aC}	568,21± 5,77 ^{aD}	522,10± 11,12 ^{bAB}	498,21± 10,28 ^{cA}	186,53± 7,37 ^{dC}	182,26± 7,23 ^{dAC}

SC- Amostra sem clarificante, CR – Amostra com clarificante carragena, BM – Amostra com clarificante bagaço de malte, CA- Amostra com clarificante casca de arroz. IF- Início da fermentação, FF – fim da fermentação, IM- início da maturação, 7M- sete dias de fermentação, 14M- quatorze dias de fermentação, FM- Final da maturação.

*Valores representados da média e o desvio padrão de três repetições.

**Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

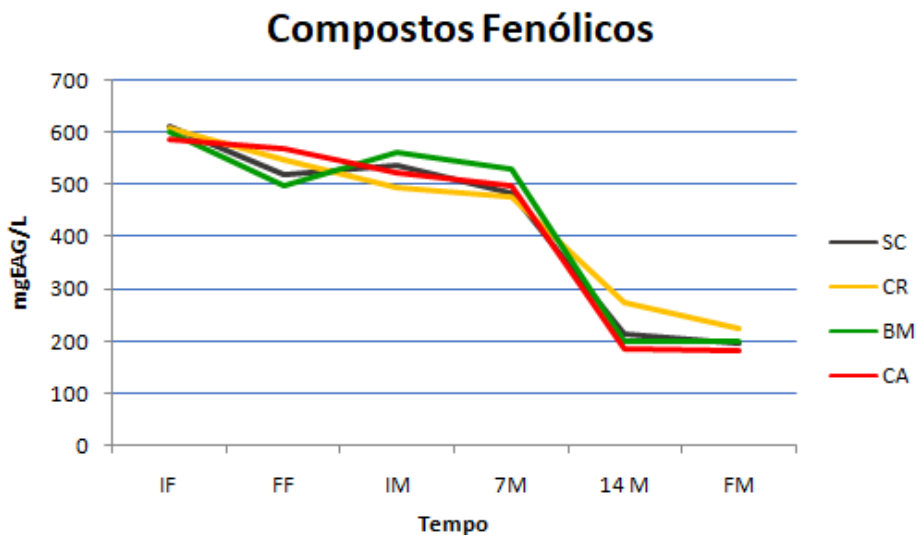
***Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: Do Autor, 2019.

Comparando as amostras no final da fermentação, houve redução no teor de compostos fenólicos, onde todas as amostras diferem entre si.

Ao se analisar os resultados das amostras na diminuição de compostos fenólicos ao final da maturação, é possível perceber que todas as amostras tem o teor de compostos fenólicos reduzidos, principalmente as amostras BM e CA. Em relação a significancia, as amostras SC, BM e CA não diferenciam entre si, sendo a amostra CR tendo o maior teor de compostos fenolicos ao final da maturação. O Gráfico 1 mostra os resultados da diminuição de compostos fenólicos.

Gráfico 1 – Compostos fenólicos ao longo do tempo em mgEAG/L



Fonte: Do Autor, 2019

Na da quantificação dos compostos fenólicos ao longo do processo observou-se que as amostras BM e CA obtiveram os menores valores de compostos fenólicos totais. Os valores finais de $182,26 \pm 7,23$ mg/L para CA e $200,67 \pm 2,84$ mg/L para BM são menores aos encontrados por Lugasi (2003) para cervejas europeias do tipo lager (270 a 470 mg/l), que os de Saura *et al* (2003), sendo de 336 ± 8 mg/L em cerveja de cevada clara e no trabalho de Freitas *et al* (2006), foram encontrados os valores de para cervejas claras e $405,8 \pm 5,81$ mg/L.

5.2 Determinação de proteínas

Os resultados obtidos de quantificação de proteínas durante todo o processo de fermentação e maturação estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Quantificação de proteínas ao longo do tempo de obtenção de cerveja do tipo lager em mg/L.

Amostras	IF	FF	IM	7M	14 M	FM
SC	1253,70± 27,80 ^{aA}	1000,00± 30,89 ^{bA}	742,51± 9,44 ^{cdA}	824,63± 26,86 ^{cA}	645,16± 16,49 ^{dfA}	523,13± 15,36 ^{fA}
CR	1122,11± 9,30 ^{aB}	854,68± 21,52 ^{bB}	618,77 ± 10,27 ^{cB}	662,09 ± 6,29 ^{cB}	649,70 ± 4,38 ^{cA}	444,90 ± 13,79 ^{dB}
BM	1457,93 ± 9,03 ^{aC}	1057,44 ± 30,89 ^{bC}	789,66 ± 14,54 ^{cC}	735,81 ± 14,43 ^{dC}	596,55 ± 22,16 ^{eB}	348,63 ± 7,82 ^{fC}
CA	1609,08 ± 15,85 ^{aD}	707,56 ± 17,82 ^{bD}	622,39 ± 29,30 ^{cB}	567,31 ± 14,28 ^{dD}	562,47 ± 14,19 ^{dB}	223,02 ± 19,19 ^{dD}

SC- Amostra sem clarificante, CR – Amostra com clarificante carragena, BM – Amostra com clarificante bagaço de malte, CA- Amostra com clarificante casca de arroz. IF- Início da fermentação, FF – fim da fermentação, IM- início da maturação, 7M- sete dias de fermentação, 14M- quatorze dias de fermentação, FM- Final da maturação. *Valores representados da média e o desvio padrão de três repetições.

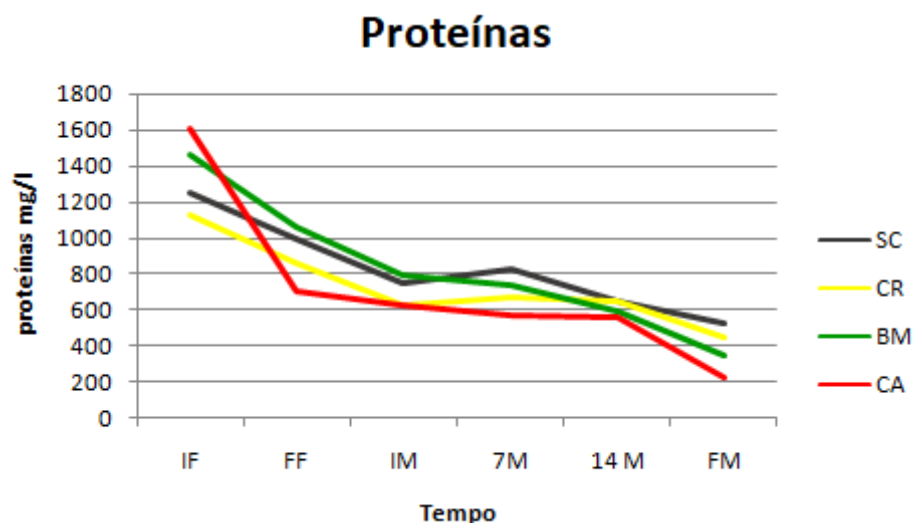
**Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

***Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: Do Autor, 2019.

Na observação dos dados ao final da fermentação, todas as amostras obtiveram menor teor de proteínas, e todas diferentes entre si ($p < 0,05$). Ao final da maturação, BM e CA apresentaram os melhores resultados, e todas as amostras variaram entre si. O gráfico 2, apresenta graficamente a redução das proteínas

Gráfico 2 – Redução de proteínas ao longo do tempo em mg/L.



Fonte: Do Autor, 2019

Através do gráfico é possível observar a redução do teor de proteínas, principalmente para CA de $223,02 \pm 19,19$ e BM, que foi de $348,63 \pm 7,82$ mostrando que os materiais utilizados foram eficientes. A cerveja pode possuir teor de proteínas de média de 500 mg/L, dependendo do processo de produção utilizado. As proteínas encontram-se na forma de polipeptídeos glicosilados, com cerca de 10-40 kDa (LEIPER *et al.*, 2003).

O efeito da redução de proteínas ocorre com melhor velocidade após o início da maturação. Segundo Rocha (2006) na segunda fase da fermentação da cerveja Lager ocorre separação da resina de lúpulo, proteína e outros sedimentos que contribuem na referida redução.

5.3 Determinação da cor

Os resultados de classificação de cor obtidos pelo método EBC realizados por meio de medição em espectrofotômetro foram acompanhados ao longo de fermentação e maturação (Tabela 5).

Tabela 5 – Cor pelo método EBC

Amostras	IF	FF	IM	7M	14 M	FM
SC	15, 725± 0, 043 ^{aA}	21, 705± 0, 075 ^{bA}	15, 325± 0,05 ^{aA}	20, 375± 0,1 ^{cA}	13, 750± 1, 145 ^{dA}	11, 425± 0,180 ^{eA}
CR	16, 400± 0, 114 ^{aB}	15, 325± 0, 066 ^{aB}	22, 925± 0, 064 ^{bB}	22, 583± 0, 014 ^{bB}	11, 250± 1,32 ^{cB}	11, 925± 0,132 ^{cB}
BM	10, 600± 0, 066 ^{aC}	18, 675± 0,180 ^{bC}	21, 175± 0,05 ^{cC}	21, 275± 0, 086 ^{cC}	11, 750± 1, 732 ^{dA}	11, 350± 0,066 ^{dC}
CA	22, 400± 0, 025 ^{aD}	16, 850± 0,066 ^{bD}	14, 550± 0,114 ^{cD}	10, 975± 0,086 ^{dD}	10, 975± 0,712 ^{dD}	10, 975± 0,05 ^{dB}

SC- Amostra sem clarificante, CR – Amostra com clarificante carragena, BM – Amostra com clarificante bagaço de malte, CA- Amostra com clarificante casca de arroz. IF- Início da fermentação, FF – fim da fermentação, IM- início da maturação, 7M- sete dias de fermentação, 14M- quatorze dias de fermentação, FM- Final da maturação.

*Valores representados da média e o desvio padrão de três repetições.

**Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

***Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: Do Autor, 2019.

Ao observar os resultados, temos algumas oscilações em relação a cor, porém comparando as amostras no início da fermentação e final da maturação há uma redução significativa ($p < 0,05$).

A legislação brasileira, estabelece como padrão que, as cervejas consideradas claras, tenham intensidade de cor abaixo de 20 EBC (BRASIL, 2009).

Todas as amostras se mantiveram no padrão da referida classificação, sendo a amostra BM com $11,350 \pm 0,066$ e CA $10,975 \pm 0,05$.

5.4 Determinação de teor alcoólico

A determinação do teor alcoólico foi aferida ao final da maturação. Os valores estão relacionados na Tabela 6.

Tabela 6 – Teor alcoólico (%v/v)

Amostra	Teor Alcoólico (%)
SC	$5,237 \pm 0,243^A$
CR	$5,005 \pm 0,124^B$
BM	$5,367 \pm 0,634^C$
CA	$5,209 \pm 0,468^C$

SC- Amostra sem clarificante, CR – Amostra com clarificante carragena, BM – Amostra com clarificante bagaço de malte, CA- Amostra com clarificante casca de arroz.

*Valores representados da média e o desvio padrão de três repetições.

**Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: Do Autor, 2019

Fazendo um comparativo entre as amostras, a que apresentou um menor teor alcoólico a amostra CR, e a com maior teor foi a BM.

As cervejas que possuem teor alcoólico abaixo de 0,5% serão consideradas cervejas sem álcool, e acima deste valor serão consideradas cervejas com álcool (BRASIL, 2009). Portanto valores obtidos de teor alcoólico estão dentro do esperado para cervejas do tipo Lager.

5.5 Determinação de turbidez

Os resultados de turbidez, realizados a partir da leitura absorvância em 600 nm estão apresentados na Tabela 7 .

Tabela 7 – Turbidez (absorbância 600 nm) ao longo do tempo de fermentação e maturação.

Amostras	IF	FF	IM	7M	14 M	FM
SC	0,608± 0,005 ^{aA}	0,408± 0,0017 ^{bA}	0,454± 0,032 ^{cA}	0,427± 0,0078 ^{bca}	0,152± 0,0036 ^{aA}	0,133± 0,002 ^{aA}
CR	0,539± 0,006 ^{aB}	0,207± 0,002 ^{bB}	0,483± 0,003 ^{cB}	0,406± 0,008 ^{dB}	0,134± 0,003 ^{eB}	0,126± 0,005 ^{eB}
BM	0,373± 0,003 ^{aC}	0,386± 0,001 ^{aC}	356± 0,006 ^{cC}	0,332± 0,004 ^{dC}	0,133± 0,001 ^{eC}	0,121± 0,002 ^{eC}
CA	0,333± 0,005 ^{aD}	0,359± 0,003 ^{bD}	0,249± 0,008 ^{cD}	0,092± 0,003 ^{dC}	0,092± 0,002 ^{dD}	0,057± 0,005 ^{eD}

SC- Amostra sem clarificante, CR – Amostra com clarificante carragena, BM – Amostra com clarificante bagaço de malte, CA- Amostra com clarificante casca de arroz. IF- Início da fermentação, FF – fim da fermentação, IM- início da maturação, 7M- sete dias de fermentação, 14M- quatorze dias de fermentação, FM- Final da maturação.

*Valores representados da média e o desvio padrão de três repetições.

**Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

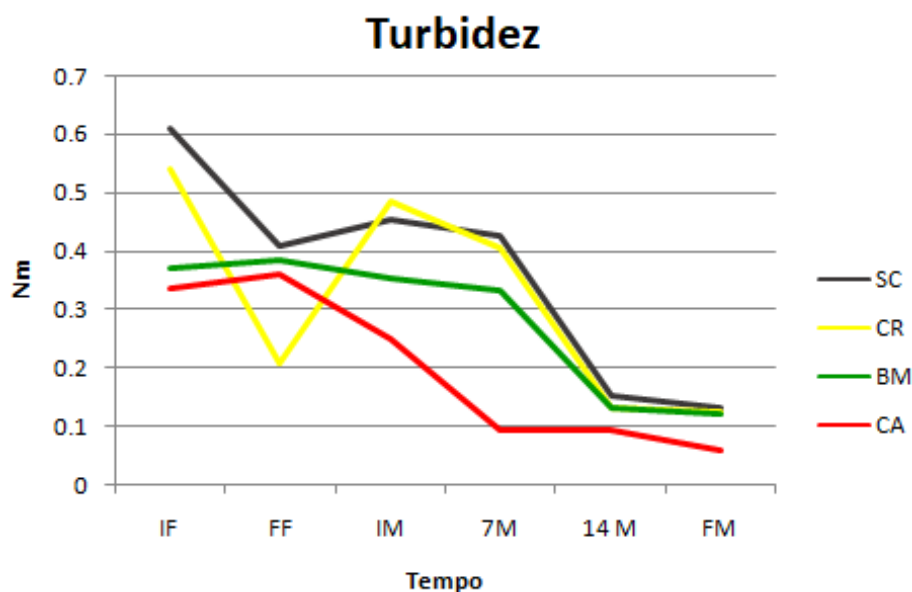
***Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: Do Autor, 2019.

A partir destes resultados, é possível concluir que houve uma diminuição significativa no nível de turbidez das amostras, onde a amostra CA se mostrou mais eficiente, com o resultado de $0,057 \pm 0,005$.

Os dados demonstram a diminuição de turbidez estão expressos no gráfico 3.

Gráfico 3 - Turbidez ao longo do tempo em nm.



Fonte: Do Autor, 2019

Na análise do gráfico, é possível observar que todas as amostras diminuíram

seu grau de turbidez, mesmo havendo um certo aumento entre a fermentação e maturação. É esperado que haja uma diminuição da turbidez, devido ao fato em que durante o processamento da cerveja as partículas em suspensão decantam, deixando o produto mais límpido (WYLER, 2013).

6. Comparação com cervejas produzidas por cervejaria local.

Para um efeito comparativo, as análises de compostos fenólicos, proteína, turbidez e EBC foram aplicadas à cervejas de tipo lager, Bier e Pilsen produzidas por cervejaria local, e estes resultados estão comparados ao último dia de maturação e todos estão relacionados na Tabela 8.

Tabela 8 – Comparação entre os resultados obtidos e amostras de cervejas de cervejaria local.

Amostra	Compostos fenólicos (mg EAG.L ⁻¹)	Proteínas (mg.L ⁻¹)	Cor (°EBC)	Abs a 600 nm
SC	196,54 ^{AC}	523,13 ^A	11, 425 ^A	0,133 ^A
CR	225,10 ^B	444,90 ^B	11, 925 ^B	0,126 ^{AB}
BM	200,67 ^A	348,63 ^C	11, 350 ^{AC}	0,121 ^{ABE}
CA	182,26 ^C	223,02 ^D	10, 975 ^C	0,057 ^C
LAGER	499,24 ^D	721,18 ^E	12,325 ^D	0,305 ^D
BIER	432,54 ^E	835,47 ^F	5,775 ^E	0,105 ^{BE}
PILSEN	255,29 ^B	246,31 ^D	5,625 ^E	0,039 ^F

SC- Amostra sem clarificante, CR – Amostra com clarificante carragena, BM – Amostra com clarificante bagaço de malte, CA- Amostra com clarificante casca de arroz..

*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Fonte: Do Autor, 2019.

Com estes dados, podemos observar que em relação à quantificação de compostos fenólicos, todas as amostras produzidas neste estudo possuem teores menores que as cervejas comerciais, tendo CA como resultado significamente inferior. A amostra CR apresenta resultado próximo a Pilsen, 225,10 mg EAG.L⁻¹ e 255,10 mg EAG.L⁻¹ respectivamente.

Em relação a proteínas, as amostras do estudo apresentaram resultados melhores que Lager e Bier, porém a amostra Pilsen apresenta melhor resultado que BM, CR e SC e não se diferenciou da amostra CA.

Já em relação à cor, as amostras Bier e Pilsen comerciais se apresentam mais baixas que as amostras SC, CR e BM. A amostra CA apresenta resultado melhor que a cerveja lager, de mesmo gênero que esta, porém tem resultado maior que Bier e Pilsen.

Para absorvância a 600 nm, a amostra BM possui o mesmo nível de significância que a amostra mega bier, porém apresenta maior resultado. Dentre os resultados das amostras executadas no experimento, CA apresenta menor absorvância, porém é maior que a amostra de tipo Pilsen.

7. Conclusão

A partir dos dados obtidos durante a realização do trabalho é possível concluir que os materiais lignocelulósicos oxidados foram capazes de diminuir o teor de proteínas, compostos fenólicos e turbidez da cerveja lager.

Dentre as amostras testadas, a que apresenta melhores resultados é a uriunda da casca de arroz, um fator que pode ter contribuído para o resultado é a presença de fitatos em sua composição, que ao interagir com proteínas causou a diminuição de turbidez da cerveja.

Dentro do exposto, a utilização de casca de arroz e bagaço de malte oxidados se apresentam como uma alternativa promissora e de baixo custo de clarificadores cervejeiros e abraçando o princípio de processos tecnológicos verdes. Logo, a aplicação dos materiais se torna viável.

Referências

- ALMEIDA e SILVA, J.B.; MEDEIROS, M.B.; BOLINI, H.M.A.; FERREIRA, F.B.; FURLAN, B.G.; GUSMÃO, F.P. **Avaliação sobre o potencial de alfa e de beta-ácido do lúpulo no controle biocida do processo fermentativo e sua influência no número de reciclagem na produção de cachaça**. Lorena: USP/EEL, março de 2014 (Relatório final, Processo FAPESP 2010/19912-1).
- AMORIM, H. V. Fermentação alcoólica. São Paulo: Ciência e tecnologia, 2005.
- AS GRANDES GOMAS- **uma visão - Aditivos & Ingredientes**, Nº 79, 2011. Disponível em: http://insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/297.pdf. Acesso em: 07 mar 2019.
- AQUARONE, *et al.* **Associação brasileira da indústria da cerveja. Contribuição econômica no ritmo do Brasil**. Biotecnologia industrial. 1. ed. São Paulo: Edgard Blucher, Vol. 5., p. 13, 2001.
- BAMFORTH, C. W., and BARCLAY, A. H. P. 1993. **Malting technology and the uses of malt**. Pages 297-354 in: Barley: Chemistry and Technology. A. W.
- BRODEUR, G. *et al.* **Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review**. Enzyme Research, Tallahassee, p.1-17, 2011. MacGregor and R. S. Bhatti, eds. Am. Assoc. Cereal Chem.: St. Paul, MN.
- BRASIL. MAPA, Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 54, DE 5 DE NOVEMBRO DE 2001**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao/1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-54-de-5-de-novembro-de-2001.pdf/view>. Acesso em: 06 mar 2019.
- BRASIL. **Decreto nº 6.871**, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas. Diário Oficial da União, Brasília, 04 de junho de 2009.
- BRASILEIRO, L. B.; COLODETTE, J. L.; PILÓ-VELOSO, D. **A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas**. Química Nova, v. 24, n. 6, p. 819-829, 2001.

BONACCORSI, M. M. **Guia de estilos de cerveja**. p. 21-40. 2016.

BOURGEOIS, C. M. y LARPENT, J. P. **Microbiologia Alimentar**. Volumen 2: Fermentaciones alimentarias. Zaragoza: Acribia, p. 19-29. 1995.

BORTOLI, Daiane A. da S.; SANTOS, Flávio dos; STOCCO, Nádia M.; ORELLI Jr., Alessandro; TOM, Ariel; NEME, Fernanda F.; NASCIMENTO, Daniela Defavari do; **Leveduras e produção de cervejas – Revisão**. bioenergia em revista: diálogos, ano 3, n. 1, p. 45-58, jan./jun. 2013.

BREJAS. Como fazer cerveja: o processo de fabricação. 2015. Disponível em: <https://www.brejas.com.br/fazer-cerveja.shtml>. Acesso em: 07 de mar. 2019.

BRIGGS, D.E. *et al.* **Brewing: Science and Practice**. Cambridge: CRC Press, 2004. 863 p.

BYO, S. **Fining Agents: Tips from the Pros**. Brew your own. Jan/Fev.2006. Disponível em: <https://byo.com/stories/item/643-fining-agents-tips-from-the-pros>. Acesso em 20 de jun. de 2019.

CARVALHO, G. B. M. **Obtenção de cerveja usando banana como adjunto e aromatizante**. 2009. 163f. Tese (Doutorado – Programa de pós-graduação em biotecnologia industrial. Área de concentração: Conversão de biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena, USP, Lorena, 2009.

CEREDA, M. P. **Manejo, Uso e Tratamento da Industrialização da Mandioca**. São Paulo: Fundação Cargill, 2000.

CLARK, J. H.; MURPHY, M. R.; CROOKER, B. A. **Supplying the protein needs of dairy cattle from by products feeds**. Journal of Dairy Science. v.70, p.1092- 1109, 1987.

CURI, R.A. **Produção de cerveja utilizando cevada como adjunto de malte**. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Energia na Agricultura), Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

DALE, C. J.; TRAN, H. T. N; LYDDIATT, A. **Studies on the mechanism of action of copper fining agents (k carrageenan)**. Copyright - Journal of the Institute of Brewing. Vol. 102. pp. 285-289, Great Britain, 1995.

- DEAK, N. A.; JOHNSON, L. A. **Fate of Phytic Acid in producing soy protein ingredients.** Journal of American Oil Chemistry Society, v. 84, p. 369-376, 2007.
- DE CLERCK, J. **A Textbook of Brewing.** London: Chapman & Hall, v. 1. 1958.
- DRAGONE, G.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: ciência e tecnologia.** São Paulo, SP: Blucher, 2010. v. 1. P 492.
- ESSLINGER, Hans Michael. Handbook of brewing: Processes, Technology e Markets. Weinheim: WILEY-VCH, 2009.
- EBC – EUROPEAN BREWERY CONVENTION. Analytica – EBC. 4. ed. Zurique: Brauerei – und Getränke – Rundschau, 1987.
- FANTOZZI, P.; MONTANARI, L.; MANCINI, F.; GASBARRINI, A.; DDOLORATO, G.; SIMONCINI, M.; NARDINI, M.; GHISELLI, A.; SCACCINI, C. **In vitro antioxidant capacity from wort to beer.** Lebensm.-Wiss. u.-Technol., v.31, p.221–227, 1998.
- FORSTER, R. T; PATINO, H.; SLAUGHTER, J. C. **The contribution of posfermentation bittering to beer composition and stability.** Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am., v.37 n.1, p.8-15, 2000.
- FREITAS G. L.; KUSKOSKI E. M.; GONZAGA L.; FETT R. **Avaliação da atividade antioxidante de diferentes cervejas aplicando os métodos ABTS e DPPH.** Alim. Nutr., Araraquara v.17, n.3, p.303-307, jul./set. 2006.
- GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M.; J. **Biology Chemistry.** Pg 177, 751, 1949.
- JAMES, J.; RAO, M. S.; **Thermochim.** Acta 1986, 97, 329.
- JULIANO, B.O.; BECHTEL, D.B. **The rice grain and its gross composition.** In: JULIANO, B.O. (Ed.). Rice: chemistry and technology. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, 1985. Cap.2, p.17-57.
- KEUKELEIRE, D. DE. **Fundamentals of beer and hop chemistry.** Química Nova, v.23, n.1, p. 108-112, 2000.
- KING, A.; YOUNG, G. **Characteristics and occurrence of phenolic phytochemical.** Journal of the American Dietetic Association, v.99, p.213-218, 1999

KUAKPETOON D, WANG YJ. **Características estruturais e propriedades físico-químicas de amidos de milho oxidados variando em conteúdo de amilose**. Carboidr Res.; p.341, 2006.

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. Berlim: VLB, 1997. p. 433-435.

LEIPER, K. A., STEWART, G. G., MCKEOWN, I. P., "**Beer polypeptides an silica gel. Part II. Polypeptides involved in foam formation**", J. Inst. Brew., 109, pp. 73-79, 2003.

LEE, J. G.; CUTLER, I. B.; J. Am. **Ceram. Soc. Bull.** 1975, 54, 195.

LEWIS, M. J.; YOUNG, T. W. **Brewing**. 2^a. ed. Nova Iorque: Publishers, Kluwer Academic/ Plenum, v. I, 2002.

LIU, Z.H. et al. **Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content**. Food Chemistry, v.89, n.1, p.49-52, 2005.

LODOLO, E. J. et al. **The Yeast Saccharomyces Cerevisiae - the Main Character in Beer Brewing**. Federation of European Microbiological Societies, 15 Setembro 2008. 1018-1036.

LUGASI, A. **Polyphenol content and antioxidant properties of beer**. Acta Alimentaria, v. 32:2, p. 181-192, 2003.

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. **A produção da cerveja no Brasil**. Ciên. Téc. Inov. e Op., v. 1, n. 1, p. 34, out./dez., 2011.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. **Brewer's spent grain: generation, characteristics and potential applications**. Journal of Cereal Science, v. 43, n. 1, p. 1-14, 2006.

NACHEL, M.; ETTLINGER, S. **Beer for dummies**. John Wley & Sons. 2ed, 2012. ISBN: 1118120302

PRIEST, F. CAMPBELL, I; SPRINGER **Science & Business Media**; 3^o Edição, 2009.

OLIVEIRA, N. A. M. de. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. 45 f. Monografia (Pós-graduação) - Universidade Federal de Minas

Gerais, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUOS99VHHA/195.pdf?sequence=1> . Acesso em: 03 mar. 2019.

PALMER, J. J. **How to Brew: Ingredients, Methods, Recipes, and Equipment for Brewing Beer at Home**. Boulder, CO: Brewers Publications, 2006. Print.

Palmer, G.H. 2006. **Barley and malt**. In: Priest, F.G., Stewart, G.G. (ed.) - Handbook of Brewing. CRC Press, 139-160.

PLATA-OVIEDO, M. **Métodos de quantificação de etanol em destilados pelo método crioscópico**. Técnica de laboratório – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: UTFPR, 2009.

REINOLD, M. **Manual Prático de Cervejaria**. 1.ed. São Paulo : Aden, 1997.213p.

ROCHA, J. **Fermentação Alcoólica na indústria cervejeira**. Brasil: Instituto Superior de Educação, 2006.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. **A química da cerveja**. Química Nova na Escola, v. 37, n. 2, p. 98-105, 2015.

SAURA, F.D. et al. **Fibra dietética en cerveza: contenido, composición y evaluación nutricional**. Cerveza e Salud, v. 159, p. 61-67, 2003.

SINGLETON, V.L. & ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enologyand Viticulture**, 16, 144- 158, 1965.

SOUZA, Deise Ferreira de. O CANECO. **Água Cervejeira: Propriedades da água** Acesso em: 15 mar. 2019. Disponível em: <<https://www.ocaneco.com.br/agua-cervejeira-analise/>> .

SOHRABVANDI, S.; MOUSAVI, S. M.; RAZAVI, S.H.; MORTAZAVIAN, A. M.; REZAEI, K. **Alcohol-free beer: methods of production, sensorial defects, and healthful effects**. Food Reviews International, v. 26, n. 4, p. 335-352, 2010.

STEWART, G. G. Adjunts. In: HARDWICK, W.A. (Ed.). **Handbook of Brewing**. New York: Marcel Dekker, 1995.. cap.7, p. 121-32.

STEWART, G. G. **A brewer's delight**. **Chemical Industry**, v.6, n.11, p. 706-709, 2000.

SZWAJGIER D., BANCARZEWSKA M. **Changes in the phenolic acid content during wort boiling and whirlpool**. **Acta Sci.Pol. Technol. Aliment.** Vol.10 (1), p. 19-33, 2011.

UNEP/ IE- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/ INDUSTRY AND ENVIRONMENT, **Environmental management in the brewing industry**, UNEP Technical Report Series nº33, UNEP, Paris, 1996.

VENTURINI FILHO, W. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, p.42, 2010.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de cerveja**. Jaboticabal: Funep, 2000. 83 p.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: E. Blucher, 2005. xiv, 550 p, il.

VENTURINI FILHO, W.G; CEREDA, M.P. Cerveja, In: ALMEIDA LIMA, U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotechnologia Industrial na Produção de Alimentos**. São Paulo: Edgar Blucher, 2001, p. 91-144.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010.

YAO, Z. S., X. Y. Wei, J. LV, F. J. LIU, Y. G. HUANG, J. J. XU, F. J. CHEN, *et al.* **Oxidation of Shenfu Coal with RuO₄ and NaOCl**. *Energ Fuel*.vol. 24, p.1801–1808, 2010.

WYLER, P. **Influência da madeira de carvalho na qualidade da cerveja**. Tese de mestrado. Piracicaba, 2013. p. 11.

ZDUNCZYK, Z.; FLIS, M.; ZIELIŃSKI, H.; WRÓBLEWSKA, M.; ANTOSZKIEWICZ Z.; JUŚKIEWICZ, J.; **In vitro antioxidant activities of barley, husked oat, naked oat, triticale, and buckwheat and their influence on the growth and biomarkers of antioxidant status in rats**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.54, p.4168-4175, 2006.